

00524
87



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“PANORAMA ACTUAL DE LA PATOLOGÍA Y
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LAS
PRINCIPALES ENFERMEDADES DEBIDAS
AL ESTAFILOCOCO DORADO”**

**TRABAJO MONOGRÁFICO
DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A :
MARIA ENRIQUETA G. LARA ROA**



MÉXICO, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**

2003

1



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado Asignado:

Presidente: Profr. Raúl Garza Velasco
Vocal: Profra. Maite Astigarraga Zavaleta
Secretario: Profra. Aurora Irma Ortegón Ávila
1er Suplente: Profr. Alejandro Camacho Cruz
2° Suplente: Profra. Irma Ruiz Silva

El tema se desarrolló en las Bibliotecas de las Facultades de Química y Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, así como en diversas Bibliotecas del Sector Salud.

Asesor del Tema:



QFB. Raúl Garza Velasco

Sustentante:



María Enriqueta Gregoria Lara Roa

DEDICATORIAS

A ti Señor, por todo lo que me has dado.

A mis padres Gabina y Federico, y en especial a mi mamá que ha estado conmigo en todo momento.

A mis hijos Moni, Susi y Quique, que son la motivación para este logro.

A ti Saturnino, por ayudarme a crecer, por creer en mi y por tu amor.

A Paty y Eduardo, que fueron el impulso y el apoyo incondicional.

A Raúl, que ha sido el hombro y la mano que me sirvieron de apoyo cuando pensaba darme por vencida y que gracias a sus consejos e invaluable ayuda ha sido posible alcanzar esta meta.

A mis hermanos José y Federico por la parte de su vida que compartieron conmigo.

A todos los maestros que participaron en mi formación.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
I. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE <i>Staphylococcus aureus</i>	4
i. Taxonomía	4
ii. Características microbiológicas	4
iii. Hábitat	16
iv. Diseminación entre la población	16
v. Estructura antigénica	18
II. IMPORTANCIA CLÍNICA DE <i>S. aureus</i>	25
i. Patogenia	26
ii. Patología	27
1. Lesiones cutáneas	27
2. Lesiones profundas	30
3. Enfermedades causadas por toxinas estafilocóccicas	38
iii. Factores de virulencia de <i>S. aureus</i>	42
iv. Epidemiología	46
III. PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	49
i. Prevención	49
ii. Diagnóstico de laboratorio	53
iii. Tratamiento	67
CONCLUSIONES	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

INTRODUCCIÓN

La especie *Staphylococcus aureus* representa uno de los principales agentes causales de enfermedades en el mundo, entre las que destacan la intoxicación alimentaria, la furunculosis, el síndrome del shock tóxico (SST), la septicemia, la neumonía y la osteomielitis, además de colonizar con frecuencia los materiales plásticos utilizados en la prevención y terapéutica, tales como las sondas, cánulas, catéteres y diversas prótesis.

Adicionalmente, este microorganismo es uno de los más importantes dentro de los hospitales, en donde su peligrosidad se incrementa merced a su marcada resistencia a la gran mayoría de los antibióticos. De hecho, numerosas cepas sólo resultan susceptibles a la vancomicina, e inclusive, algunas ya han desarrollado tolerancia hacia este antimicrobiano, lo que sin duda lo sitúa como uno de los principales retos del equipo de salud en el ambiente nosocomial.

Cabe destacar que la identificación de esta especie en el laboratorio permanece prácticamente sin mayores cambios, ya que la prueba de la coagulasa continúa significándose como la más confiable entre las de índole microbiológico; sin embargo, es indispensable incorporar acciones tendientes a tipificar los aislamientos en los laboratorios clínicos, las cuales se basan en

el empleo de bacteriófagos. Ello permitirá contar con la información necesaria para el tratamiento empírico de las estafilococcias de mayor gravedad, en tanto se realizan los aislamientos, las identificaciones y las cada vez más trascendentales pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos.

El presente trabajo describe las principales características microbiológicas de *Staphylococcus aureus*, las patologías más relevantes que esta especie provoca al humano y las alternativas terapéuticas con que se cuentan para su tratamiento y posible erradicación.

OBJETIVOS

- Describir las principales características microbiológicas de *S. aureus*, subrayando los fundamentos de las pruebas que lo identifican con certeza y las bases de su tipificación en el laboratorio.
- Señalar las enfermedades que los estafilococos coagulasa positiva ocasionan al ser humano y los antibióticos con los que aquéllas se tratan más frecuentemente.
- Mencionar las metodologías más empleadas para diagnosticar las enfermedades estafilocócicas en el laboratorio y tipificar con bacteriófagos y molecularmente las cepas implicadas.

I. CARACTERISTICAS GENERALES DE *Staphylococcus aureus*

i. Taxonomía

El género *Staphylococcus* es el de mayor importancia médica dentro de la familia *Micrococcaceae* y se constituye por cocos Gram positivos anaerobios facultativos que forman racimos irregulares. El nombre "estafilococo" proviene del vocablo griego *staphule* = racimo de uvas y de *coco* = grano. Puesto que la mayor parte de las cepas recién aisladas de lesiones suelen producir un pigmento amarillo dorado, éstas reciben la denominación de *Staphylococcus aureus* para distinguirlas de los estafilococos menos virulentos, los cuales comúnmente dan lugar a colonias blancas (1).

Entre las más de 20 especies de *Staphylococcus*, sólo seis poseen una gran importancia clínica: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. schleiferi* y *S. lugdunensis* (1).

ii. Características microbiológicas

Morfología celular y colonial

La especie *S. aureus* se integra por células esféricas inmóviles de 0.8 a 1 μm de diámetro, las cuales se dividen en tres planos para formar estructuras

semejantes a racimos de uvas. En los extendidos de material purulento, los cocos aparecen solos, en pares, cadenas cortas y racimos, pero estos últimos predominan claramente en las preparaciones provenientes de cultivos sólidos es decir, la formación de cadenas se favorece en los medios líquidos (2, 3).

Los estafilococos desarrollan abundantemente en los medios comunes, produciendo colonias grandes, convexas, lisas y brillantes, previa incubación durante 24 a 48 h. Por lo general, las colonias de *S. aureus* evidencian pigmentos que varían desde el amarillo claro hasta naranja oscuro –lo cual se debe a sustancias carotenoides– y suelen ser hemolíticas en las placas de agar sangre(3, 4, 5).

Sin embargo, en microbiología médica, las cepas más relevantes forman colonias pequeñas (formas G o enanas) en las placas inoculadas con material procedente de tejidos infectados, las cuales pueden pasar inadvertidas o ser confundidas con las originadas por estreptococos u otras bacterias hemolíticas (3).

Ocasionalmente, se han logrado aislar algunas formas L asociadas a la osteomielitis estafilocócica; aparentemente, aquéllas provocan lesiones crónicas y son capaces de desencadenar contagios extra e intrahospitalarios (3).

Cultivo

Los estafilococos son anaerobios facultativos pero, por obvio, su desarrollo es más abundante bajo condiciones aerobias; algunas cepas llegan a requerir mayor tensión de CO₂, aunque casi todas proliferan en un amplio espectro de temperaturas, desde los 6.5 hasta los 46°C (con un óptimo de 30 a 37°C) y, en cuanto al pH, de 4.2 a 9.3 (con un óptimo de 7 a 7.5); sus requerimientos nutricionales son complejos, pero desarrollan sin problemas en casi todos los medios de rutina, incluidos el agar nutritivo y el agar tripticosa soya, aunque es recomendable sembrar las muestras clínicas en agar sangre de carnero (1).

En las placas de agar las colonias son lisas, opacas, redondas, convexas-bajas, de 1 a 4 mm de diámetro. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* producen colonias amarillo-doradas en el primer aislamiento; dicha coloración puede atribuirse a pigmentos carotenoides y fluctúa desde el anaranjado oscuro hasta el amarillo pálido¹(148).

A causa de esta variabilidad y de la dependencia de la producción de pigmento asociado a las condiciones del cultivo, la pigmentación colonial no representa un criterio válido para diferenciar a *S. aureus* de otras especies del

¹ Cabe mencionar que dicha pigmentación se pierde con incubaciones muy prolongadas, dando lugar a colonias trastúcidas.

género; de cualquier manera, la producción de pigmentos se hace más evidente cuando, existe previa incubación de las placas de agar a 35°C durante 24 h, y éstas se mantienen otro día a temperatura ambiente (1).

En cuanto a las características culturales se refiere, las colonias de *S. aureus* suelen rodearse por una zona de hemólisis en agar sangre, aunque ello sólo ocurre cuando se trata de cepas productoras de hemolisinas solubles. De cualquier manera, otras especies estafilocócicas generan hemólisis, razón por la cual dicho fenómeno resulta insuficiente para establecer la presencia de estafilococos dorados (148).

Cabe señalar que, generalmente, el aislamiento de *S. aureus* se intenta en medios selectivos que contienen concentraciones relativamente elevadas de NaCl² o una proporción del 1% de telurito de potasio ya que, a diferencia de muchos otros, este microorganismo puede desarrollar en presencia de ambos agentes inhibidores. En tal sentido, se emplean los agares S110 y manitol-salado, entre los primeros, así como el Baird Parker y Vogel Jhonson entre los segundos. Los estafilococos no desarrollan en medios selectivos tales como agar Mac Conkey y agar SS que contienen sales biliares (1, 6, 7, 8, 9, 10).

² Es importante señalar que *S. aureus* puede crecer bien a concentraciones del 7-10% de dicha sal, aunque algunas cepas lo hacen hasta en proporciones de hasta 20%

Pruebas de identificación

En relación con las pruebas que se realizan para distinguir entre estafilococos y estreptococos, destaca la de la catalasa, de la cual se puede prescindir cuando el analista se encuentra familiarizado con la morfología colonial de ambos géneros, e inclusive, como es menester, se han observado las extensiones teñidas al Gram de los cultivos correspondientes. Por otra parte, también es conveniente diferenciar al género *Staphylococcus* del *Micrococcus*, antes de proceder a identificar la especie del aislamiento (tabla 1) (6, 2).

Tabla 1. Principales pruebas destinadas a diferenciar a los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus* (30,75).

Pruebas	<i>Staphylococcus</i>	<i>Micrococcus</i>
Producción de ácido por fermentación de glucosa en anaerobiosis.	+	-
Sensibilidad a lisostafina (200 µg/mL)	Sensible	Resistente
Sensibilidad a eritromicina (0.4 µg/mL)	Resistente	Sensible

Finalmente, la subclasificación en especies de importancia clínica dentro del género *Staphylococcus* se realiza con base en la realización de pruebas tales como las mencionadas en la tabla 2 (2, 6).

Tabla 2. Principales características para diferenciar entre las especies de *Staphylococcus* de interés clínico (2, 6).

Característica	I	II	III	IV	V	VI
Pigmento en las colonias	+	-	v	v	v	-
Producción de ácido por fermentación de manitol	+	-	v	v	-	-
Coagulasa	+	-	-	-	-	-
Hemólisis	+	-	-	+	+	+
Resistencia a novobiocina	-	-	+	-	-	-
Fosfatasa	+	+	-	-	-	+
Desoxirribonucleasa	+	-	-	-	-	+
Ureasa	v	+	+	-	v	-
Factor aglutinante	+	-	-	-	(+)	+
Termonucleasa	+	-	-	-	-	+
Lecitinasa	+	-	-	-	-	-
Ornitina DC	-	v	-	-	+	-

CLAVES: I = *S. aureus*; II = *S. epidermidis*; III = *S. saprophyticus*; IV = *S. haemolyticus*; V = *S. lugdunensis*; VI = *S. schleiferi*; + = positivo; - = negativo; v = variable; () = reacción tardía.

A continuación se describen brevemente los fundamentos de las pruebas que se realizan con más frecuencia dentro de los laboratorios clínicos.

Prueba de la catalasa

La catalasa es una enzima que descompone al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua. Químicamente, se trata de una hemoproteína similar a la

hemoglobina que cuenta con cuatro átomos de hierro en su estado más oxidado (Fe^{+++}). La reacción de la catalasa es la siguiente:



Cabe recordar que los estafilococos producen catalasa, la cual los diferencia de los estreptococos (catalasa negativa), con la sencilla adición de una pequeña cantidad del sustrato a una asada del cultivo analizado; los microorganismos productores originarán la efervescencia del sustrato, debido a la liberación del oxígeno molecular (8).

Fermentación del manitol

S. aureus fermenta al manitol, fenómeno que se manifiesta fácilmente en medios tales como el agar manitol salado, que contiene manitol al 1%, NaCl al 7.5%, rojo de fenol y peptonas (10, 11).

En general, la fermentación de carbohidratos se pone de manifiesto en medios líquidos o sólidos que contienen al azúcar en turno, peptonas, macro y micronutrientes y, desde luego, un indicador ácido-base, que suele seleccionarse entre (el púrpura de bromocresol, rojo de fenol, azul de bromotimol, rojo de cresol o rojo neutro). Los primeros cuatro viran a amarillo en condiciones ácidas y, el quinto, a rosa intenso; las bacterias no

fermentadoras del carbohidrato provocarán condiciones alcalinas asociadas a la utilización de las peptonas como su fuente de carbono y los vires serán diferentes (6).

Prueba de la coagulasa

La coagulasa es una proteína de composición química desconocida, que es capaz de resistir temperaturas de hasta 60°C por 30 minutos; esta enzima posee una actividad similar a la protrombina, por lo que convierte al fibrinógeno en fibrina, esto último aún en presencia de anticoagulantes tales como oxalato, citrato, EDTA o heparina.

Dicho proceso alterno de coagulación requiere de un componente del plasma denominado "factor reactivo de la coagulasa" (FRC), por lo cual el ensayo debe efectuarse agregando dicho fluido orgánico a los cultivos líquidos del microorganismo, en donde éste ha liberado a la exoenzima durante 24 h.

El diagrama 1 compara al proceso de coagulación que ocurre en el organismo humano (bajo condiciones fisiológicas), con el mediado por la coagulasa estafilocócica.

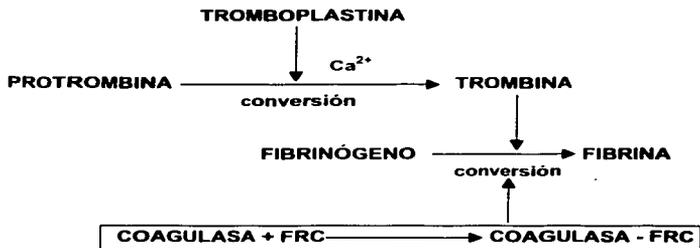


Diagrama 1. Últimos pasos asociados a la coagulación del plasma por factores inherentes al organismo humano y su relación con el proceso desencadenado por la coagulasa de *S. aureus* (10, 11).

El diagrama 1 muestra que, mientras en el organismo humano se necesita de cationes Ca^{2+} para que se forme trombina (la proteína que cataliza la conversión del fibrinógeno en fibrina), la coagulasa estafilocócica no requiere de la participación de dicho metal, sino la del FRC plasmático.

Por otro lado, si bien la prueba de la coagulasa se realiza en dos formas dentro del laboratorio: en tubo y en portaobjetos, esta última variante no pone en evidencia a la coagulasa (una exoenzima clásica), sino al factor aglutinante (ligado a la superficie microbiana) (10).

La prueba se considera positiva cuando se detecta cualquier grado de coagulación visible en el tubo de ensayo, lo cual debe efectuarse tomando

lecturas durante las primeras 4 h de incubación a intervalos de 30 a 60 minutos, ya que la elaboración de fibrinolisinias microbianas podrían originar "resultados falsos negativos"; si durante las primeras 4 h no se ha evidenciado una reacción positiva, la lectura definitiva se lleva a cabo 18 h después, ya que algunas cepas sintetizan menores cantidades de la enzima y pueden tardar más tiempo en transformar al fibrinógeno en fibrina.

El sustrato más recomendado para realizar la prueba es el plasma de conejo con EDTA (10, 11).

Prueba del factor aglutinante

El factor aglutinante –antes conocido como coagulasa "ligada"- debe su nombre a que, al actuar sobre el plasma, en pocos segundos se forman redes de fibrina que semejan a los grumos característicos de las reacciones de aglutinación que se verifican en placa.

La prueba se realiza en un portaobjetos, en el que se coloca una gota de plasma sobre el que después se suspende una asada de la colonia analizada o el sedimento de un cultivo líquido de 24 h. El factor aglutinante reacciona directamente con el fibrinógeno del plasma (10, 11).

Pruebas adicionales o complementarias

Prueba de la desoxirribonucleasa

Debido a que algunas cepas de *S. aureus* llegan a producir reacciones de coagulasa equívocas, resulta de utilidad incorporar algunas otras pruebas complementarias que correlacionan con aquélla.

En tal sentido, la de la DNAasa se efectúa sembrando densamente al microorganismo en el medio para DNAasa; después de una incubación de 24 a 48 h, se adicionan sobre la superficie del agar varias gotas de colorante metacrómico azul de toluidina O, el cual virará del azul intenso hacia el rosa en las zonas en que el DNA fue hidrolizado. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* resultan positivas, lo cual no sucede cuando se trata de las especies *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* (6, 11).

Prueba de la nucleasa termoestable

Dado que dos complejos enzimáticos bacterianos degradan el DNA: la DNAsa termolábil y la DNAsa termoestable, frecuentemente es preciso diferenciar entre ambas variantes, ya que la primera también es producida por algunas otras especies de *Staphylococcus* (*S. aureus* produce las dos).

La prueba de la termonucleasa se lleva a cabo como la de la DNAsa pero, antes de sembrar al microorganismo en el medio, se le expone a temperaturas de 90-100°C durante 15 min (11).

Prueba de la fosfatasa alcalina

El ensayo se lleva a cabo sembrando a la bacteria analizada en agar nutritivo adicionado de 1 % de fosfato de fenolftaleína, sustrato de la enzima; previas 24 h de incubación, la eventual hidrólisis del sustrato se revela exponiendo la placa abierta a vapores de NH_4OH , los cuales pondrán de manifiesto a la fenolftaleína libre, con base en su vire hacia la coloración rosa clásica de esta última en condiciones alcalinas (6).

Prueba de la lecitinasa

La lecitina o yema de huevo, es un fosfolípido que representa el sustrato sobre el cual actúa la lecitinasa. Esta prueba es la más utilizada en el análisis microbiológico de diversos alimentos y consiste en inocular al microorganismo sospechoso en el medio Baird Parker, el cual contiene K_2TeO_3 y, sobre todo, yema de huevo, que le confiere una turbiedad evidente; previa incubación de 24 h, dicha turbiedad desaparece alrededor de las colonias negras (reductoras del telurito), si es que también son lecitinasa positiva (6, 11).

Metabolismo

Los estafilococos obtienen su energía a través de sus procesos respiratorio y fermentativo, llevando a cabo las vías de la glucólisis y de las pentosas fosfato o del ciclo del ácido cítrico. La capacidad del microorganismo para subsistir en condiciones de alto y bajo potencial de oxidación-reducción le representa una ventaja obvia para competir por su supervivencia en las superficies mucosas que contienen una microflora mixta. Así mismo, utiliza una amplia gama de carbohidratos produciendo ácido acético y bióxido de carbono en condiciones aerobias, o bien, ácido láctico y acetoina en ambientes anaerobios (1, 12, 13).

iii. Hábitat

S. aureus forma parte de la flora habitual de los humanos, lo que provoca que numerosas personas sean portadoras asintomáticas de este microorganismo y funjan como fuente de infección para sí mismos y para otros individuos (3).

Si bien el microorganismo puede colonizar las vías respiratorias altas, su presencia es más común en las fosas nasales anteriores; de esta manera y bajo ciertas circunstancias, se puede manifestarse como patógeno, particularmente cuando la flora microbiana es eliminada al consumirse antibióticos. Así mismo, rara vez se establece en la vagina (uno de los factores desencadenantes del SST) y, más frecuentemente, en el cabello y en la piel de la cara, axilas, perineo, ombligo y manos (2, 3, 5, 8).

iv. Diseminación entre la población

Se estima que entre el 20 y 75 % de las personas albergan a *S. aureus* en diversos lapsos de su vida; a este respecto, los individuos pueden dividirse en portadores persistentes (cuando lo portan durante periodos prolongados), portadores ocasionales (los que son colonizados en forma esporádica), portadores transitorios o intermitentes (cuando contienen alguna clona y después a otra) y, finalmente, no portadores (cuando nunca o en muy raras ocasiones portan cepas virulentas) (3).

Aunque varios factores influyen para mantener la condición de portador, el más importante consiste en el estado inmunitario del hospedero: si éste es muy eficiente elimina con mayor facilidad a los estafilococos sin dar lugar a los portadores persistentes (2).

S. aureus se disemina de varias maneras, incluidos los estornudos que promueven la contaminación del aire y de los objetos de las habitaciones, mismos vehículos que trasladan al microorganismo hacia otros individuos susceptibles (3, 14).

El contacto directo también opera como vía de diseminación; por ejemplo, un portador asintomático puede contaminar su propia piel y ropa los estafilococos que habitan en sus fosas nasales anteriores (2, 8).

El propio personal hospitalario se encuentra en inmejorable posición para transmitir la bacteria a sus pacientes. De hecho, los neonatos y enfermos suelen adquirirla a partir de las manos de las enfermeras que los atienden, implicando a las vías respiratorias altas y a la piel en unas cuantas horas; en algunos casos, aparecen patologías tales como impétigo, conjuntivitis, infección del cordón umbilical, e inclusive, neumonía y septicemia (3, 8, 15).

Finalmente, los pañales, sábanas y cobijas también constituyen probables focos de infección pero, sin lugar a dudas, las manos del personal médico fungen como las principales fuentes de infección dentro del ambiente intrahospitalario (3).

v. Estructura antigénica

La estructura de *S. aureus* es compleja y presenta un importante contenido de antígenos implicados en sus mecanismos patogénicos (1, 6). En la capa más externa se localiza la cápsula, de la cual carece un considerable de cepas clínicas. A continuación, se ubica la pared celular, que funge como la porción que le confiere forma y estabilidad a la célula microbiana, y está conformada por el peptidoglicano y numerosos ácidos teicoicos específicos para cada especie, algunos de los cuales se unen a la membrana celular (figura 1).

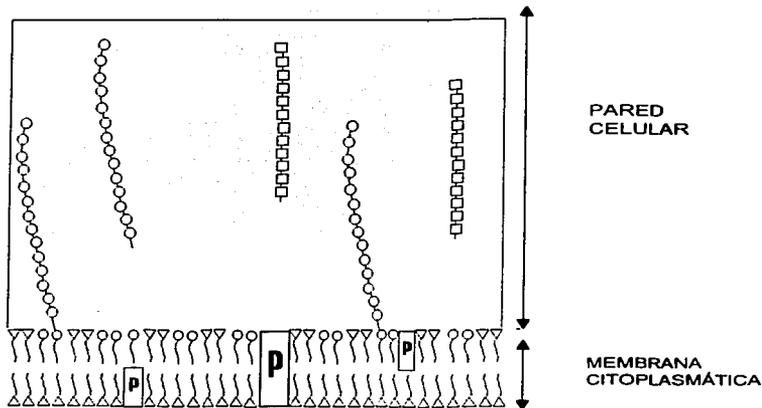


Figura 1.- Modelo de la pared celular Gram positiva de *S. aureus*.

CLAVES: fosfolípidos, glucolípidos, ácidos lipoteicoicos,
 ácidos teicoicos.

En la pared celular también se encuentran la proteína A, el factor de agregación, polisacáridos y receptores proteicos y, finalmente, la capa más interna corresponde a la membrana citoplásmica. La figura 2 muestra la estructura antigénica del microorganismo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

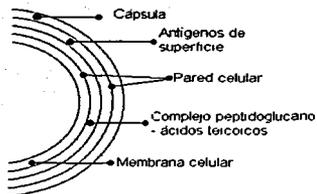


Figura 2. Estructura antigénica de *Staphylococcus aureus*.

Debido a la importancia de la estructura estafilocócica en el proceso de reconocimiento inmune y en cuanto a su papel como factor de virulencia, a continuación se describen algunos aspectos relacionados con los componentes principales de este microorganismo.

Cápsula

Como en muchos otros microorganismos, la cápsula de *S. aureus* representa un importante factor de virulencia que promueve la evasión del sistema inmune del hospedero. Más del 90% de los cultivos clínicos estafilocócicos producen polisacáridos capsulares, clasificados en 11 serotipos y en dos grupos, en este último caso, con base en la morfología colonial a la que dan origen (14).

Las cápsulas de tipo mucoide incluyen a los serotipos 1 y 2 y confieren esta característica a las colonias; por su parte, las microcápsulas abarcan a los serotipos 3 al 11 y, dado que son muy delgadas, las colonias de las cepas que las contienen no son mucoides. Cabe mencionar que el serotipo 2 fué el primero en ser caracterizado y que, a la fecha, también se conocen el 1, 5 y 8 (14, 16, 17, 18).

La expresión de la cápsula se ve ligeramente afectada por ciertos factores ambientales, e inclusive, las de tipo mucoide son inestables tanto *in vitro* como *in vivo* (19). Al parecer, el material capsular influye en la velocidad de reproducción: mientras las cepas no mucoides se dividen con una frecuencia de 10^{-4} a 37°C y entre 10^{-2} a 3.8×10^{-1} a 43°C , las del tipo 2 lo hacen a la de 10^{-2} a 37°C ó 44°C (14, 20).

Los estudios experimentales en animales han demostrado que pueden ocurrir cambios fenotípicos entre las cepas mucoides y no mucoides: al inyectarse intraperitonealmente en ratones, los microorganismos recuperados de los lavados intraperitoneales dan lugar a colonias mucoides (21); esto mismo se observa en todos los estafilococos que son aislados a partir del hígado de ratón, 10 días después de la inoculación. Sin embargo, cuando los microorganismos se recuperan por el día 24, no todas las colonias son mucoides (17).

Por otra parte, la producción de cápsula tipo 5 aumenta en condiciones aerobias y disminuye a pH alcalino o en presencia de extracto de levadura (17, 22). Así mismo, los cultivos de *S. aureus* asociados a mastitis bovina incrementan la síntesis de polisacárido capsular en presencia de leche (23).

Pared celular

En la época de los 40s y cercana a los 50s se empezó a reconocer la importancia de la pared celular como un componente anatómico trascendental en *S. aureus* y otras bacterias Gram positivas. Uno de los primeros hallazgos consistió en la extracción de esta estructura como una entidad física que presenta un tamaño y forma independiente (37).

Entre 1960 y 1970 se descubrió el modo de acción de numeroso antibióticos que actúan a nivel de la biosíntesis de la pared celular, tal como lo hacen la penicilina y otras β -lactaminas (14).

Durante mucho tiempo, bioquímicos y microbiólogos consideraron a la pared como un exoesqueleto cuya función única era la de retener la presión del citoplasma; pero, ahora se ha comprobado que la polimerización a la que está sujeta permite la formación de una capa interna naciente que se desplaza hacia la capa más externa hasta adquirir el estado maduro; ciertamente, dicho proceso es aplicable para bacterias Gram positivas y Gram negativas (14).

Desde luego, esta clase de observaciones se han logrado mediante nuevas técnicas analíticas de alta resolución (por ejemplo, cromatografía líquida de alta presión [HPLC] y espectrometría de masas) (9, 24) y han permitido encontrar que la pared celular representa un organelo con múltiples funciones: se asocia íntimamente a la respuesta inmunitaria del hospedero, aporta sitios de enlace covalente para proteínas de superficie del hospedero, se relaciona con la resistencia a los antibióticos β -lactámicos y glicopeptídicos, etc. (14).

Peptidoglucano

Es un polímero de polisacáridos compuesto por cadenas de los ácidos N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina, en el primero de los cuales se enlazan perpendicularmente los pentapéptidos que mantienen unida a una cadena con su paralela siguiente. A su vez, cada elemento del pentapéptido está unido por puentes que se establecen entre el residuo L-lisina de una cadena y el D-alanina de la siguiente. En el caso de *S. aureus*, ese puente es de pentaglicina (6).

Las peptidoglucano-hidrolasas participan en procesos biológicos tales como la síntesis de la pared celular, el crecimiento y división bacterianos, la separación de las células hijas, así como en el reciclaje y la regeneración del propio peptidoglucano (25).

Acidos teicoicos

Son polimeros de fosfato de glicerol y ribitol, unidos covalentemente al peptidoglicano y a los lípidos de la membrana celular. En algunos procesos infecciosos se elaboran anticuerpos frente a ellos, lo que propone su importancia como factores de virulencia (6).

Algunas otras estructuras antigénicas

Proteína A

Es una proteína de 42Kda que se encuentra unida en forma covalente al peptidoglucano y es capaz de fungir como receptor de la región Fc de las inmunoglobulinas G (IgG) humanas, así como de adsorber péptidos del complemento (30).

Factor de agregación

Se localiza en la superficie externa de las células de *S. aureus* y actúa como receptor del fibrinógeno, al cual activa mediante una reacción enzimática directa (6).

II. IMPORTANCIA CLÍNICA DE *S. aureus*

Si bien el 2 al 40 % de los adultos es portador nasal de *S. aureus* y el 10 % de las mujeres lo albergan en la vagina, resulta interesante que algunos grupos de la población son aún más propensos a ser colonizados por dicho microorganismo; por ejemplo, el personal sanitario, los diabéticos, los pacientes con hemodiálisis y los adictos a drogas administradas por vía endovenosa (30,56).

Entre las infecciones ocasionadas por *S. aureus*, las más frecuentes son las que afectan a la piel, destacando la celulitis, las pústulas, los furúnculos, el carbunco y el impétigo. Este agente causal también es responsable de procesos más graves, tales como la bacteremia, endocarditis, meningitis, neumonía y osteomielitis, que aparecen cuando el microorganismo penetra a través de las heridas cutáneas y se disemina hacia otros órganos (6, 8).

Otros padecimientos estafilocócicos son provocados por toxinas e incluyen al Síndrome del Shock Tóxico (SST), la intoxicación alimentaria debida a la ingestión de enterotoxinas y el Síndrome Estafilocócico de la Piel Escaldada (SEPE) (6, 8).

i. Patogenia

En general, *S. aureus* sólo origina infecciones cuando las condiciones tisulares resultan oportunas para su multiplicación (5).

De hecho, la agresividad latente del microorganismo únicamente se manifiesta si la barrera cutánea o mucosa pierde su integridad en respuesta a algún traumatismo; así, las células microbianas acceden a los tejidos subyacentes, generando un absceso local característico, constituido por tejido necrótico, fibrina y un gran número de leucocitos polimorfonucleares (PMNs); una vez que *S. aureus* logra alcanzar el torrente sanguíneo, puede llegar a generar enfermedades graves diseminadas (2, 3).

Ciertamente, una vez iniciada la infección, la patogenia de las enfermedades estafilocócicas es extremadamente compleja, debido a la participación de numerosas toxinas, enzimas y elementos estructurales (5, 26).

Por lo que respecta a los principales factores que predisponen a la adquisición de enfermedades ocasionadas por este microorganismo, destacan los siguientes (11):

- Lesiones de la piel normal: erosiones y heridas traumáticas, incisiones quirúrgicas, quemaduras, enfermedades cutáneas primarias.
- Afecciones virales previas: influenza, sarampión, etc.

- Alteraciones asociadas a leucocitos: leucopenia congénita o adquirida, uso de medicamentos inmunosupresores, defectos que inciden en los procesos fagocitarios (quimiotaxis, opsonización, muerte bacteriana intracelular, etc.).
- Deficiencias en la inmunidad humoral.
- Instalación de cuerpos extraños en el organismo: catéteres o sondas intravenosas, suturas o prótesis valvulares cardíacas.
- Administración de antibióticos ineficaces contra el agente causal (buscando efectos profilácticos o terapéuticos).
- Enfermedades debilitantes: diabetes, alcoholismo, disfunción de arterias coronarias, tumores malignos, uremia, SIDA, etc.

ii. Patología

1. Lesiones cutáneas

Furunculosis

El furúnculo es una lesión superficial de la piel que se origina en los folículos pilosos, e inclusive, las glándulas sebáceas y sudoríparas. El bloqueo del conducto glandular favorece que el proceso se extienda al tejido subcutáneo apareciendo lesiones supurativas; en general, este tipo de lesiones suelen aparecer como una complicación del acné (5, 27).

Las foliculitis se relacionan con un escaso dolor aunque, a medida que la infección penetra los tejidos subcutáneos, surge una clara hipersensibilidad a la palpación. La mayoría de los furúnculos evolucionan en 3 a 5 días y drenan de manera espontánea, aliviando el dolor y dando inicio a la curación; las lesiones satélites y secundarias son consecuencia de autoinoculaciones (1, 2, 5).

Algunos individuos experimentan una furunculosis crónica cuya duración varía de meses a años y, excluyendo al acné, no existe una enfermedad predisponente (5).

Carbunco

El carbunco es similar a la furunculosis, pero el primero se asocia a focos múltiples y se extiende hasta las capas más profundas del tejido fibroso. Además, parece estar limitado al cuello y a la parte superior de la espalda, en donde la piel es elástica y más gruesa, aunque puede afectar otras regiones anatómicas. Esta enfermedad se caracteriza por el desarrollo de un cráter necrótico central, el cual supura debido a la degranulación progresiva, pero desarrolla una escara violácea hipertrófica y el paciente presenta fiebre. Estas lesiones suelen ser de carácter serio, ya que el microorganismo puede invadir el torrente sanguíneo y generar una bacteremia (1, 2, 5).

Impétigo

En el recién nacido, las pústulas impetiginosas son las manifestaciones cutáneas estafilocócicas más frecuentes, aunque esta enfermedad también es común en los niños pequeños, a quienes afecta más a menudo alrededor de la nariz (1).

El impétigo es muy contagioso y, cuando aparece en alguna guardería o escuela, se disemina en forma epidémica. Las cepas que más intervienen son las del tipo fágico 71 y la afección se caracteriza por la formación de pústulas con costras sobre las capas superficiales de la piel; al eliminarse las costras queda expuesta una superficie desnuda húmeda y rojiza (1, 5, 27).

Paroniquia

Ésta representa otro padecimiento común por *S. aureus*, afecta al tejido blando que rodea a las uñas y se atribuye a autoinfecciones o a alguna fuente externa (5).

Endoftalmitis

Es una enfermedad que frecuentemente resulta de alguna infección en el interior del ojo destacando, entre sus agentes etiológicos, los patógenos extracelulares tales como *B. cereus*, *E. faecalis* y *S. aureus*. El curso de la endoftalmitis bacteriana varía ampliamente, dependiendo del microorganismo

involucrado. La electro-retinografía y los estudios histológicos han revelado que las toxinas, la localización intraocular de la bacteria y la respuesta del hospedero, facilitan el establecimiento de cualquiera de los tres patógenos señalados en la región intraocular (28).

2. Lesiones profundas

Osteomielitis

Esta enfermedad se observa principalmente en varones menores de doce años y, en casi la totalidad de los casos, es el resultado de la diseminación hematógena a partir de algún foco primario, por lo general asociados a furúnculos (1, 27).

La osteomielitis estafilocócica secundaria se asocia a heridas penetrantes o quirúrgicas y es más frecuente en pacientes con *diabetes mellitus* o enfermedad vascular periférica. Dos formas cada vez más comunes del padecimiento son la osteomielitis vertebral, que se observa en adultos (en especial a los adictos a drogas de administración intravenosa) y, la osteomielitis clavicular, una complicación del uso de catéteres en la vena subclavia (1, 2).

S. aureus es causa de la mayor parte de los casos de osteomielitis primaria, debido probablemente a que la circulación arterial del área se compone de capilares arteriales terminales (5).

A medida que la patología progresa, el microorganismo se va localizando en la diáfisis de los huesos largos, y el pus se acumula y emerge hacia la superficie del hueso, lo que eleva el periostio y produce un absceso subperióstico. Los síntomas clínicos de la osteomielitis aguda incluyen fiebre, escalofríos, dolor sobre el hueso y espasmo muscular alrededor del área comprometida. Cuando la infección se produce cerca de una articulación, una de las complicaciones comunes consiste en la pioartrosis estafilocócica (75,116,148).

Pioartrosis

Aproximadamente el 50 % de los casos de artritis bacteriana es ocasionado por *S. aureus*, especialmente cuando se trata de pacientes con artritis reumatoide tratados con corticosteroides. La afección suele ocurrir después de cirugías ortopédicas, junto con una osteomielitis e infecciones locales de la piel, o bien, como resultado de la inoculación directa del estafilococo dentro de la articulación durante las inyecciones intraarticulares (2, 27).

Cabe mencionar que en la pioartrosis estafilocócica se destruye la articulación produciendo deformidades articulares permanentes (5).

Bacteremia y endocarditis

La bacteriemia puede aparecer como consecuencia de cualquier infección estafilocócica localizada: el 50 % de ellas se adquiere en el hospital y el resto siempre tiene relación con individuos que padecen alguna otra enfermedad predisponente: *diabetes mellitus*, enfermedades cardiovasculares, alteraciones granulocíticas o deficiencia inmunológica (5).

A pesar del tratamiento antibiótico apropiado, la endocarditis por *S. aureus* muestra una elevada mortalidad, la cual varía entre 40 y 80 %, dependiendo del problema médico subyacente, la edad del paciente y la resistencia de la cepa implicada a la penicilina (1).

La piel y los tractos respiratorio y genitourinario representan los focos principales de ambos padecimientos, aunque también los cuerpos extraños, tales como las prótesis intravasculares y los catéteres plásticos intravenosos, constituyen un elemento propicio para su origen; así mismo, los drogadictos conforman un grupo de alto riesgo para la detección de bacteriemia por *S. aureus* entre la comunidad (5).

Los signos y síntomas incluyen fiebre, escalofríos y toxicidad sistémica; además, la endocarditis representa una complicación habitual, la cual casi

siempre es aguda y maligna, con la destrucción de las válvulas cardíacas en unos pocos días (5).

Neumonía

Mundialmente, se estima que la neumonía mata a 4 de los 14 millones de niños menores de 5 años que mueren cada año (29).

En este sentido, la neumonía estafilocócica muestra tasas de mortalidad de hasta 50 %, aunque su frecuencia es relativamente rara, excepto durante los periodos epidémicos de influenza. Al parecer, los menores de un año de edad son las personas más susceptibles, ya que representan aproximadamente el 75 % del total de casos. Sin embargo, la neumonía estafilocócica primaria se observa más a menudo en pacientes con defensas deterioradas: niños con fibrosis quística o sarampión, pacientes debilitados o con influenza e individuos hospitalizados tratados con antimicrobianos, esteroides, quimioterapéuticos anticancerosos o inmunodepresores (2, 29).

Los agentes causales del padecimiento varían dependiendo de la edad, pero también de las estaciones del año, el estado inmunitario del individuo, el estado nutricional y el estrato socioeconómico. En los últimos años, el padecimiento ha sumado a los adictos a la heroína con endocarditis y, de manera notable, a adolescentes y adultos jóvenes (2, 29).

El estafilococo llega a los pulmones por vía aérea, para provocar la neumonía primaria; por su parte, la neumonía secundaria o neumonía hematógena tiene su origen en tejidos infectados distantes (29).

El periodo de incubación de las neumonías primarias fluctúa entre 1 y 7 días, según la movilidad ciliar, el moco, la integridad de la mucosa epitelial respiratoria, la concentración de IgA secretoria, la cantidad de inmunoglobulinas y la participación de los PMNs y los macrófagos pulmonares, alveolares y pleurales (29, 30).

La formación de múltiples abscesos en los pulmones representa una de las principales manifestaciones de la neumonía estafilocócica, aunque aquélla suele ser irregular y focal (29).

Sus signos clínicos más relevantes incluyen fiebre, anorexia, vómito, mal estado general y síndrome de insuficiencia respiratoria (disnea, polipnea, aleteo nasal y cianosis), así como una tos seca o húmeda. Cabe mencionar que la intensidad de las manifestaciones varía de acuerdo con la gravedad y que, en el recién nacido, a menudo no hay fiebre (sino hipotermia) ni tos.

Por otro lado, las complicaciones frecuentes de la neumonía abarcan insuficiencia cardíaca, septicemia, abscesos pulmonares, obstrucción neumónica con atelectasia y enfisema, ruptura alveolar y desequilibrio

hidroelectrolítico, los cuales originan acidosis respiratoria y acidosis mixta (29).

Durante las etapas tempranas de la enfermedad, los pacientes presentan dolor en el pecho, fiebre, aliento muy corto y signos de infusiones pleurales; por lo regular, el diagnóstico requiere de la toraxocentesis y la terapia oportuna casi siempre obliga a la intubación pectoral o a la intervención quirúrgica (29).

S. aureus continúa siendo una causa común de enfisema asociado a infecciones en el espacio pleural; tal es el caso del enfisema agudo, una consecuencia de la neumonía, de abscesos pulmonares o de alguna enfermedad hematógena (29).

Infecciones metastásicas

Otra de las clásicas consecuencias de la bacteremia estafilocócica consiste en la aparición de abscesos metastásicos en la piel, los tejidos subcutáneos y/o los pulmones, si bien no son raros los que se sitúan en los riñones, el cerebro y la médula espinal (1, 27).

Infecciones postquirúrgicas

S. aureus es la causa más común de infecciones adquiridas en las salas de operación. Éstas aparecen más frecuentemente entre los 7 y 10 días posteriores a la cirugía, aunque se acepta como su rango general el de 2 a 30 días. Lógicamente, ese lapso está influenciado por factores tales como la administración profiláctica de agentes antimicrobianos, sumada a las dosis y a la duración del régimen terapéutico, así como por los procedimientos quirúrgicos, el grado de contaminación microbiológica en el quirófano, la duración de la operación y la susceptibilidad intrínseca del paciente (2, 5, 14).

Evidentemente, también gravita la implantación de prótesis, cánulas, sondas y catéteres, por lo que su tratamiento incluye la remoción del biomaterial y la administración del antimicrobiano adecuado (14).

Infección de tejidos quemados

Si bien la infección representa un factor agravante en cualquier procedimiento quirúrgico, aquélla resulta aún más riesgosa cuando el paciente ha experimentado quemaduras (26).

De hecho, la septicemia es una complicación frecuente en los enfermos quemados tratados con soluciones intravasculares, transductores, sondas endovenosas o catéteres para control continuo (26).

El individuo que ha experimentado quemaduras presenta complicaciones sépticas, ya que aquéllas originan inmunosupresión asociada a la acción de toxinas, a bajas considerables en IgG, IgM y complemento, e inclusive, a liberación de PGE₂, la cual interfiere la respuesta inmune celular (26).

Así, las bacterias proliferan libremente, alcanzando niveles mayores de 10⁵ UFC por gramo de tejido, lo que permiten su migración a través de los tejidos.

Entre los signos locales de infección estafilocócica en los tejidos quemados, destacan los siguientes (26):

- Áreas de coloración focal negra o café oscura.
- Desprendimiento de la escara.
- Coloración purpúrea y edema de la piel que rodea a la herida.
- Presencia de ectima gangrenoso.
- Apariencia piocianótica del tejido inferior a la escara.
- Decoloración hemorrágica del tejido subcutáneo.
- Formación de abscesos debajo de la escara.

3. Enfermedades causadas por toxinas estafilocócicas

Síndrome estafilocócico de la piel escaldada (SEPE)

Este afecta sobre todo a neonatos y a menores de 4 o 5 años, es relativamente rara en adultos, exceptuando a los pacientes con compromiso inmunológico, lo que sugiere la presencia de anticuerpos neutralizantes en la mayor parte de la población (5).

El SEPE es originado por cepas de *S. aureus* que sintetizan y liberan exotoxina epidermolítica, también conocida como exfoliatina; además, se trata de un síndrome que comprende tres entidades clínicas diferentes aunque relacionadas estrechamente, en donde suelen afectarse primero la cara, las axilas y las ingles: (2, 5, 27)

1. La dermatitis exfoliativa generalizada es la forma más severa, se caracteriza por la presencia de un eritema generalizado doloroso y una espectacular descamación ampollar en áreas extensas de la piel; inclusive, el foco de infección puede ubicarse en zonas relativamente distantes.
2. El impétigo ampollar, que corresponde a una forma localizada del síndrome, ya que la infección ocurre en el mismo sitio lesionado.

3. La escarlatina estafilocócica, es una forma leve pero generalizada del síndrome, con un cuadro clínico similar al de la escarlatina estreptocócica; el foco habitual corresponde a una lesión localizada, a partir de la cual es posible aislar estafilococos.

Intoxicación alimentaria

Esta afección es la forma más común de las intoxicaciones alimentarias asociadas a bacterias y se adquiere al ingerir alimentos que contienen enterotoxinas preformadas, los cuales se han contaminado previamente con las manos del personal que los transporta o manipula. Los alimentos implicados más comunes son los ricos en carbohidratos, aunque también actúan como fuente de la enfermedad los que contienen altas concentraciones de proteínas (5, 31, 32).

Los alimentos contaminados con enterotoxinas estafilocócicas (SEs) son totalmente normales en cuanto a su olor, apariencia y sabor; aquéllas se producen en concentraciones suficientes a partir de las 4 a 6 h, a temperatura ambiente; de hecho, cuando el producto no se refrigera, el microorganismo alcanza cifras de 10^5 UFC/g. Además, las toxinas de *S. aureus* muestran cierta resistencia al calor, lo que garantiza la persistencia de su toxicidad aún cuando el alimento sea calentado hasta ebullición (5, 13).

Los síntomas aparecen en forma abrupta 2 a 6 h después de la ingestión, destacando los cólicos severos, dolor abdominal, náuseas, vómito, diarrea, sudoración y cefalea; la fiebre es rara y la recuperación rápida, por lo que las molestias ceden dentro de las 6 a las 24 h posteriores a su inicio, excepto en los ancianos o en quienes padecen otras afecciones (5).

Síndrome del Shock Tóxico (SST)

Se trata de una enfermedad multisistémica que afecta principalmente a mujeres jóvenes que emplean tampones superabsorbentes durante la menstruación; sin embargo, también pueden padecerlo las mujeres que no están menstruando, los niños y los jóvenes, ya sea que hayan sido intervenidos quirúrgicamente en la nariz, o bien, que presenten furúnculos o heridas contaminadas (2, 3, 11).

Al parecer, no existe correlación significativa alguna entre el resultado de la enfermedad aguda y el tipo de terapéutica antimicrobiana. Sin embargo, el uso de fármacos resistentes a la acción de las β -lactamasas reduce la tasa de recidivas, debido probablemente a la reducción de la colonización por cepas productoras de toxina TSST-1 (5, 8).

Aunque la afección puede aparecer en niños, várones y mujeres que no menstrúan, la mayor parte de los casos han ocurrido durante la menstruación

ó 2 días después, en mujeres que utilizan tampones con espuma de poliéster o fibras de rayón de poliacrilato (1, 8).

Se ha comprobado que dichos materiales aumentan la producción *in vitro* de la TSST-1, ya que fijan al ión magnesio y reducen su concentración en el medio de cultivo; la capacidad de las fibras para actuar de esa misma forma *in vivo* podría explicar la asociación de la enfermedad al uso de tampones vaginales que contienen fibras sintéticas³ (5).

Las manifestaciones clínicas predominantes incluyen fiebre, mialgias, vómito, diarrea y faringitis, hasta antes de sobrevenir el shock (presión sistólica menor de 80 mm Hg) y los trastornos en múltiples órganos. A las 24 horas aparece un eritema macular, difuso, blanquecino y signos de inflamación en mucosas (conjuntivitis, vaginitis y lengua en fresa). La erupción desaparece en tres días, pero la descamación sigue en manos y pies 5 a 12 días después. Los pacientes prefieren permanecer inmóviles en cama por las intensas mialgias y cerca de la mitad evidencian edema en los pies, confusión y agitación (11, 33, 34, 35).

Los niveles de anticuerpos anti-TSST-1 en el suero de las enfermas y de quienes cuentan con antecedentes del SST son más bajos que los de las mujeres que no presentan evidencias previas de la afección; ello sugiere que

³ De hecho, se ha observado que la deficiencia de magnesio retrasa la proliferación del microorganismo pero incrementa la liberación de toxina.

la ausencia de anticuerpos contra la toxina podría representar un factor predisponente de orden genético para el desarrollo del padecimiento (26).

iii. Factores de virulencia de *S. aureus*

El estafilococo dorado, produce varias exotoxinas, hemolisinas, enzimas y componentes celulares, que actúan como factores de patogenicidad y se encuentran relacionados con las enfermedades que produce, aunque sus efectos específicos aún son controversiales (2, 3, 36).

Los principales factores de virulencia de *S. aureus*, se destacan en las tabla 3, 4 y 5.

Tabla 3. Exotoxinas de *S. aureus* .

<p>Agentes anti-Membranales</p>	<p>Hemolisinas α, β, γ, y δ (1, 14, 21, 37, 38, 39, 40, 41, 42)</p> <p>Leucocidina y otras toxinas bicomponentes. (2, 14, 43, 44, 45)</p>	<p>Formación de poros o daño en la membrana de células eucariotes.</p> <p>Son hemolíticas, citotóxicas, dermonecróticas y letales para varios tipos celulares como eritrocitos, plaquetas, leucocitos, epiteliales y endoteliales.</p> <p>Provocan liberación de prostaglandinas y leucotrienos (vasoactivos), citocinas proinflamatorias, compuestos procoagulatorios e inductores de apoptosis.</p> <p>Daños a los sistemas cardiovascular, muscular, respiratorio y en la corteza renal.</p>
<p>Super Antígenos (SAg)</p>	<p>Enterotoxinas (SEs) (1, 3, 14, 46, 47, 48, 49, 50)</p> <p>Toxina 1 del Síndrome del Shock Tóxico (TSST-1) (1, 2, 8, 11, 13, 36, 46, 51)</p> <p>Toxinas exfolitivas (ETs). (1, 14, 43, 52)</p>	<p>Activan policlonalmente numerosos linfocitos T y a células monocíticas con la consecuente sobreproducción de citocinas como IL-1, IL-2, TNF-α y β e INF-γ.</p> <p>Provocan severos efectos sistémicos: fiebre, diarrea, hipotensión, lesiones en la piel, shock, fallas multiorgánicas y la muerte.</p> <p>Inducen apoptosis de linfocitos T y B.</p> <p>Las SEs también activan mastocitos que liberan mediadores de inflamación y por vía oral producen emesis y diarrea.</p> <p>Las ETs además son epidermolíticas y causan descamación de la piel.</p> <p>Son responsables de la intoxicación alimentaria, del shock tóxico y del síndrome estafilocócico de la piel escaldada (SEPE) respectivamente.</p>

Tabla 4. Enzimas de *S. aureus* que actúan como factores de virulencia.

Coagulasa (1, 14, 53, 54, 55, 56)	Activa protrombina formando la estafilotrombina, produciendo coágulos o trombos de fibrina que protegen a la bacteria de los mecanismos de defensa del huésped. Hay dos formas la "ligada" y la "libre".
Estafiloquinasa (Sak) (1, 8, 14, 57)	Realmente no es una enzima pero activa el plasminógeno precursor de la plasmina que actúa como agente trombolítico. Facilita la liberación y diseminación de la bacteria atrapada en coágulos de fibrina.
Catalasa (2, 11, 58)	Convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Protege a la bacteria cuando es fagocitada de los radicales libres que se generan en el sistema de la mieloperoxidasa.
Hialuronidasa (1, 14)	Hialuronato liasa que hidroliza el ácido hialurónico del tejido conectivo facilitando la diseminación del <i>S. aureus</i> .
Fosfatasa (59)	Actúa desfosforilando a la tirosina afectando varias funciones biológicas como la transducción de señales, el control del crecimiento y el metabolismo.
Proteasas (14, 60, 61)	Enzimas digestivas con actividad proteolítica que proveen al <i>S. aureus</i> de nutrientes de bajo PM. Se han detectado tres tipos: serin-, metalo- y tiol-proteasas. La serin-proteasa (V8) actúa sobre inmunoglobulinas, afectando las defensas del hospedero y sobre el inhibidor de la elastasa de neutrófilos contribuyendo al daño tisular. También afecta la adherencia del <i>S. aureus</i> a superficies celulares.
Lipasas (14, 62)	Hidrolizan compuestos lipídicos contribuyendo a la nutrición y supervivencia del estafilococo, sobre todo cuando coloniza áreas sebáceas como el tejido cutáneo y subcutáneo. La actividad bactericida de los ácidos grasos de cadena larga liberados por la acción de las lipasas es eliminada por la acción de otra enzima estafilococcica que los esterifica, la EMAG, indispensable en la patogenia de la piodermitis. Produce dos fosfolipasas C, una actúa como esfingomielinasa hemolítica (la β -hemolisina) y la otra como fosfatidilinositol específica (PI-PLC) que interfiere en funciones dependientes de transducción de señales.
Nucleasa (1, 14)	Fosfodiesterasa que hidroliza al DNA y RNA mediante un mecanismo dependiente de calcio. Existen las formas termoestable (TNasa) y termolábil.
β -lactamasas (2, 3, 6, 63)	Inactivan antibióticos como penicilina y cefalosporina escindiendo el anillo β -lactámico. Generalmente son inducibles y ocasionalmente constitutivas.

Tabla 5. Antígenos superficiales de *S. aureus* que actúan como factores de virulencia.

<p>Proteínas superficiales</p>	<p>Participan en adherencia bacteriana a matrices extracelulares, en la estabilidad estructural, en la entrada de nutrientes, en la salida de productos de desecho y como "sensores del medio ambiente" que generan transducción de señales para la adaptación microbiana (14, 61, 62, 63). Entre las más importantes están:</p> <p>Proteína A (SpA): Une IgG por su región Fc. Hay dos formas la "libre" y la "ligada". Consume complemento, evitan opsonización y oculta a la bacteria con proteína del hospedero. También es quimiotáctica, es capaz de generar hipersensibilidad, de lesionar plaquetas y puede mediar la adherencia (1, 14).</p> <p>Adhesinas que reconocen matrices extracelulares (MSCRAMMs): Se unen a fibronectina (FnbpA y FnbpB), a colágeno (CN) y a fibrinógeno (ClfA, ClfB y Sdr). Promueven el tropismo, la colonización y la invasión bacteriana. Median la adherencia del <i>S. aureus</i> a sustratos del hospedero y a biomateriales implantados como catéteres y prótesis (14, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75).</p> <p>Proteínas análogas al MHC-II (Map): Capaces de interactuar con varias proteínas y péptidos del hospedero por lo que también participan en la adherencia estafilococcica a células (14).</p> <p>Sideróforos: Procuran hierro al <i>S. aureus</i>, elemento esencial para su supervivencia y virulencia (77, 78, 79).</p>	
<p>Otras sustancias estructurales</p>	<p>Cápsula</p>	<p>Enmascara al C3b depositado sobre el <i>S.aureus</i>, interfiriendo en su actividad opsonica para fagocitos y la activación del complemento por via alterna (23, 24, 80, 81, 82, 83).</p>
<td data-bbox="197 564 291 655"> <p>Ácidos teicoicos</p> </td> <td data-bbox="291 564 960 655"> <p>Componente de la pared celular que se asocia al peptidoglucano y a lípidos de membrana. Adsorbe componentes del complemento evitando la formación del MAC y la actividad opsonica. También participa en la adherencia de la bacteria a superficies mucosas (1, 2, 14).</p> </td>	<p>Ácidos teicoicos</p>	<p>Componente de la pared celular que se asocia al peptidoglucano y a lípidos de membrana. Adsorbe componentes del complemento evitando la formación del MAC y la actividad opsonica. También participa en la adherencia de la bacteria a superficies mucosas (1, 2, 14).</p>
<td data-bbox="197 655 291 761"> <p>Peptidoglicano</p> </td> <td data-bbox="291 655 960 761"> <p>Induce producción de IL-1 y Ac opsonizantes, es quimiotático para PMNs, presenta actividad parecida a las endotoxinas, puede generar el fenómeno de Shwartzman y activa complemento. Por su capacidad de adsorber opsoninas puede provocar trastornos por inmunocomplejos (1, 6, 8, 11, 84).</p> </td>	<p>Peptidoglicano</p>	<p>Induce producción de IL-1 y Ac opsonizantes, es quimiotático para PMNs, presenta actividad parecida a las endotoxinas, puede generar el fenómeno de Shwartzman y activa complemento. Por su capacidad de adsorber opsoninas puede provocar trastornos por inmunocomplejos (1, 6, 8, 11, 84).</p>
<td data-bbox="197 761 291 889"> <p>Polisacárido A</p> </td> <td data-bbox="291 761 960 889"> <p>Los exopolisacáridos y la formación de glicocálices se relaciona con la formación de colonias adherentes rodeadas por una biopelícula que envuelve a las bacterias. Siendo esto un factor crítico en la colonización estafilococcica de catéteres intravasculares y prótesis valvulares implantadas, además de protegerlos de la acción de antibióticos y de las defensas del hospedero (6, 8, 27).</p> </td>	<p>Polisacárido A</p>	<p>Los exopolisacáridos y la formación de glicocálices se relaciona con la formación de colonias adherentes rodeadas por una biopelícula que envuelve a las bacterias. Siendo esto un factor crítico en la colonización estafilococcica de catéteres intravasculares y prótesis valvulares implantadas, además de protegerlos de la acción de antibióticos y de las defensas del hospedero (6, 8, 27).</p>
<td data-bbox="197 889 291 974"> <p>Factor de agregación</p> </td> <td data-bbox="291 889 960 974"> <p>También conocida como coagulasa ligada o unida. Mediante una reacción no enzimática convierte el fibrinógeno en fibrina la cual recubre a las bacterias, haciéndola resistente a la opsonización y a la fagocitosis. (1, 11, 27)</p> </td>	<p>Factor de agregación</p>	<p>También conocida como coagulasa ligada o unida. Mediante una reacción no enzimática convierte el fibrinógeno en fibrina la cual recubre a las bacterias, haciéndola resistente a la opsonización y a la fagocitosis. (1, 11, 27)</p>

iii. Epidemiología

De acuerdo con diversos estudios en los que se ha analizado la diseminación de *S. aureus*, ésta ocurre con mayor frecuencia entre los pacientes hospitalizados que entre la población común (2).

A pesar de los numerosos esfuerzos realizados para detener su diseminación, particularmente dentro de los hospitales, su infortunada permanencia representa la causa más común de bacteremia intranosocomial: en EUA, de los 2 millones de pacientes que cada año padecen alguna infección intrahospitalaria por dicho microorganismo, aproximadamente 260,000 continúan experimentando patologías asociadas a él (14).

Cerca del 20 % de la población se encuentra colonizada por *S. aureus*, pero en los pacientes diabéticos, los sometidos a diálisis, los que padecen de SIDA, los hospitalizados y el propio personal que integra los equipos de salud, son los que representan las cifras mayores (2, 14).

Se estima que la mitad de las infecciones causadas en la piel se deben a este microorganismo, el cual también ocasiona el 11 a 38 % de la bacteremias adquiridas en la comunidad (14, 85).

Un trabajo realizado por Weinstein y cols reveló que la bacteremia ocasionada por *S. aureus* en adultos internos de algunos hospitales, constituye el agente etiológico más común de los cuadros clínicos más significativos (18.9%), seguido por los estafilococos coagulasa negativa (9.2%); además, se encontró que el 10 al 40 % de las bacteremias estafilocócicas progresa hasta endocarditis, cifras que se reducen hasta 2-13% en caso de que la septicemia se deba a los estafilococos coagulasa negativa (14).

Así mismo, el Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales estableció que, en el lapso 1990-1996, *S. aureus* y *E. coli* fueron los patógenos nosocomiales aislados más frecuentemente en EUA (14).

Respecto a la neumonía, padecimiento del cual este microorganismo no funge como un agente etiológico común, en México se ha observado que su mortalidad se localiza principalmente en el grupo conformado por niños menores de 5 años: el 67% muere en su domicilio y a pesar de haber recibido algún tipo de atención médica; evidentemente, los decesos predominan entre los no derechohabientes a algún sistema de salud, siendo más numerosos en los estados del sur del país (29).

En los hospitales de zonas pobres, la neumonía, otras afecciones de vías respiratorias y las gastroenteritis son la causa más frecuente de hospitalización en las áreas de pediatría, implicando a los recién nacidos y lactantes desnutridos. La fuente de contagio más relevante de las infecciones

de vías respiratorias la constituyen casi siempre las secreciones nasales de personas infectadas (29).

Las neumonías nosocomiales en el Hospital Infantil de México y en el Hospital de Pediatría oscilan entre el 8 y 11% de todos los casos de infección intrahospitalaria (29).

El Programa de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales que analiza las notificaciones de los institutos de Cardiología, Cancerología, Enfermedades Respiratorias, Nutrición, Neurología y Neurocirugía, así como las del Hospital Infantil de México, ubica la frecuencia de neumonía en el orden del 9%, con una mortalidad de 7%, cifra que semeja a la de 10% estimada en los reportes internacionales. La etiología varía de acuerdo con cada hospital; sin embargo, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* y *E. coli*, son las bacterias predominantes en el ambiente nosocomial (29).

Por otra parte, los padecimientos provocados por toxinas estafilocócicas: la intoxicación alimentaria, el SST y el SEPE, son aparentemente más comunes en EUA que en otras partes del mundo (14).

III. PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

i. Prevención

Los seres humanos y particularmente los adultos, son muy resistentes a las infecciones por estafilococos. Según se piensa, la exposición a dichos microorganismos durante la lactancia y la niñez ocasiona la formación de elevados niveles de anticuerpos y, por lo tanto, de resistencia contra la infección. La inmunización mediante esos productos estafilocócicos, ha ocasionado cierto incremento en la resistencia de animales de laboratorio, pero no así en el hombre (86).

Por lo tanto puede especularse que la mayoría de las personas adultas han alcanzado su máximo nivel de resistencia contra los estafilococos. Esto se apoya en el hecho de que las enfermedades ocasionadas por este microorganismo ocurren sólo bajo aquellas condiciones en las cuales la inmunidad del hospedero, o su resistencia natural, están considerablemente disminuidas. Hasta el momento, no existe ningún antígeno que produzca una inmunización específica eficaz y que pueda ser aislado a partir de las cepas de estafilococos. La única excepción, es el material capsular.

La protección conferida a través de vacunas recombinantes de CNA en ratones que cursan con bacteremia demuestran que las MSCRAMMs podría ser consideradas como blanco en inmunoprevención y estrategias terapéuticas para combatir las infecciones estafilocócicas (14).

Por otro lado, la infección estafilocócica nunca será controlada por completo debido al estado portador de humano, sin embargo en el hogar, lo mismo que en el ambiente hospitalario, la diseminación de la infección sólo puede limitarse por medio de los cuidados higiénicos apropiados y la eliminación adecuada de los materiales contaminados, sin olvidar que el lavado de manos continúa siendo la medida más importante para reducir el riesgo de transmisión de éste microorganismo de una persona a otra.

En el recién nacido se debe prestar mayor cuidado al muñón umbilical; además el personal médico debe ser sometido a exámenes de detección en busca de portadores de estafilococos (1, 8).

La diseminación de cepas patógenas de estafilococos en las secciones de cuna se evita mediante la colonización artificial de los neonatos con una cepa de muy baja virulencia. Esta colonización de la piel o las vías respiratorias altas interfiere de modo significativo con la colonización subsecuente por cepas más patógenas y así, reduce la incidencia de enfermedades estafilocócicas entre este grupo de edades. El mismo principio se aplica a la prevención de la

furunculosis recurrente después de un tratamiento con antibióticos en pacientes de edad avanzada (3).

En infecciones estafilocócicas recurrentes, la prevención está dirigida hacia el control de una posible reinfección y si es posible erradicar su acarreo. El uso de jabones de clorhexidina y el lavado a altas temperaturas podría ser utilizado reduciendo el riesgo de reinfección (8, 36).

La erradicación temprana de MRSA de vías respiratorias altas es importante particularmente en pacientes inmunocomprometidos o quienes han sufrido alguna operación quirúrgica (87).

La quimioprofilaxia es eficaz cuando se utiliza para erradicar la infección inmediatamente después de que se estableció. Por otra parte, si se busca evitar con ello la colonización o las infecciones por cualquier microorganismo del entorno, en este caso será ineficaz. Tal es el caso de la endocarditis donde la quimioprofilaxia está orientada a evitar infecciones después de diversas técnicas quirúrgicas (86, 88).

En la práctica médica, el simple lavado de manos antes y después de la interacción con cada paciente frena la diseminación de los microorganismos. La mupirocina aplicada intranasalmente elimina *S.aureus* acarreados de las narinas en personas saludables por más de 3 meses y disminuye el acarreo ocasionado por las manos durante 72 horas después de la terapia; sin

embargo, el rápido desarrollo de resistencia a mupirocina no lo ha permitido (2, 15, 85).

El control de la transmisión estafilocócica suele centrarse en hospitales, guarderías, quirófanos, cuneros y salas de quimioterapia, donde se concentran individuos susceptibles. Un control adecuado requiere de una gran vigilancia de todo el personal de la institución, bajo la supervisión de expertos. Las medidas utilizadas incluyen: higiene rigurosa, descubrimiento de portadores, control de contactos, control de la difusión aérea y por fomites, así como la búsqueda de fuentes de infección mediante la tipificación por fagos y de resistencia a los antibióticos (14, 86).

El control para la intoxicación alimentaria con estafilococos depende principalmente de una manipulación adecuada de alimentos. Es esencial la refrigeración pronta para evitar el crecimiento de estafilococos y la producción de enterotoxina. Descubrir portadores entre quienes manipulan los alimentos, y separarlos de las situaciones en las cuales pudieran contaminarlos. Insistir en que los alimentos envasados en grandes volúmenes no logran enfriarse lo suficientemente rápido para que la temperatura disminuya en toda la masa del contenido, evitando que los estafilococos puedan crecer y secretar toxina mientras el alimento se va enfriando; por lo tanto, deben consumirse inmediatamente después de su preparación o fraccionarlos en pequeñas cantidades si se van a almacenar en refrigeración o congelación (8, 13, 27).

ii. Diagnóstico de laboratorio

En virtud de que los estafilococos coagulasa positiva también suelen encontrarse en la piel, nasofaringe y otras mucosas de las personas saludables, su aislamiento a partir de las muestras clínicas no siempre implica que se ha detectado al verdadero agente etiológico de la enfermedad (13).

Es decir que, el diagnóstico de las afecciones estafilocóccicas, suele incluir un componente de incertidumbre, cuando las zonas anatómicas implicadas corresponden a tejidos colonizables en condiciones de salud (3, 36).

Al margen de ello, es preciso señalar que, excluyendo a las enterobacterias, los cocos Gram positivos representan los microorganismos asociados con mayor frecuencia a infecciones humanas (10).

Por tal motivo, es común que el laboratorio clínico enfrente el reto de diferenciar entre estafilococos y estreptococos, con base en el aspecto de la colonia, en su tipo de hemólisis en agar sangre, en la disposición de las células que se observan en los frotis teñidos al Gram y en la prueba de la catalasa.

Evidentemente, cuando se trata de enfermedades sistémicas muy graves analizadas mediante hemocultivos, el laboratorio debe proporcionar reportes parciales en lapsos pequeños; por ejemplo, “presencia de cocos Gram positivos” en los frotis iniciales. Ello permite que el médico elija una terapia empírica temporal que cubra a los estafilococos y los estreptococos, en tanto recibe el resultado final, lo cual ocurrirá hasta que se aislen las colonias del invasor, se determine su género y se efectúen las pruebas de identificación correspondientes (2, 85).

En resumen, *Staphylococcus aureus* puede identificarse confiablemente con base en sus reacciones positivas para las siguientes pruebas: 1) catalasa, que diferencia a este microorganismo de los estreptococos; 2) fermentación de manitol, la cual diferencia a *S. aureus* (casi siempre positiva) de *S. epidermidis* (raramente positiva); y 3) coagulasa, que permite distinguir con mucha mayor certeza a *S. aureus* del resto de las especies del género. Otras pruebas empleadas con regularidad son: la termonucleasa, la cual suele ser positiva para *S. aureus* y negativa para otras especies del género, la de resistencia a la novobiocina, que distingue a los estafilococos dorados de *S. saprophyticus*, y algunas otras que se mencionaron en el capítulo I del presente trabajo (2).

Otras consideraciones diagnósticas trascendentales, son:

- En general, las muestras analizadas más frecuentemente incluyen material purulento, orina, sangre, aspirados transtraqueales y líquido cefalorraquídeo (1, 6, 8, 11).
- Dada la amplia distribución de los estafilococos, la recolección de los especímenes cutáneos requiere de la previa asepsia de las áreas involucradas (1, 6, 8, 11).
- Cuando el paciente presente signos de infección sistémica, deben realizarse hemocultivos seriados. La invasión del torrente sanguíneo y de otros órganos suele provenir de algún foco primario menos importante o, inclusive, no aparente; de cualquier manera, siempre que el microorganismo se aísla a partir de hemocultivos, existe la posibilidad de endocarditis, osteomielitis u otras enfermedades metastásicas profundas (89).
- El diagnóstico de la osteomielitis se establece aislando a *S. aureus* de la sangre, la secreción o la médula ósea del hueso correspondiente. El centellograma óseo y los estudios galio tienen una sensibilidad de casi 95% y una especificidad del 60-70%, por lo que son muy útiles para detectar el sitio de infección (90).
- En cuanto al SST, los hemocultivos son negativos, puesto que los síntomas son provocados por la TSST-1 (extrañamente no ocurre la bacteremia). Además, las pruebas complementarias indican que la creatina-fosfocinasa, el BUN o creatinina sérica, la bilirrubina total, la AST (aspartato-aminotransferasa) y la ALT (alanina-aminotransferasa) rebasan dos veces

el límite superior de los valores normales; en la orina aparecen 5 leucocitos por campo y el estudio hematológico señala 100.000/ μ L o menos plaquetas (11, 90).

- La intoxicación alimentaria estafilocócica se diagnostica con base en el cuadro clínico. El análisis del alimento implicado manifiesta una fuerte contaminación con cocos Gram positivos detectables en los frotis teñidos y en los medios inoculados; por su parte, las enterotoxinas pueden identificarse en los alimentos mediante técnicas de difusión en gel o por radioinmunovaloración, empleando antisueros específicos. Los análisis más detallados de esta enfermedad incluyen muestras de vómito, alimentos sospechosos y raspados de nariz y manos, los cuales se siembran en agar yema de huevo-telurito o manitol salado (15, 27).

Pruebas de susceptibilidad

Esta clase de pruebas deben efectuarse rutinariamente en caldos o por difusión en disco, a partir de los aislamientos provenientes de las muestras clínicas (8).

La resistencia a la penicilina G se puede detectar con base en pruebas positivas para β -lactamasa (aproximadamente el 90% de las cepas de *S. aureus* producen esta clase de enzimas) (8).

Por lo que respecta a la resistencia a nafcilina, oxacilina y meticilina, aquélla se observa en casi el 20% de los aislamientos de *S. aureus* y en cerca del 75% de los de *S. epidermidis*. La tolerancia al primero de los antibióticos citados correlaciona con la presencia del gen *mecA*, el cual codifica para las PBP_s; dicho gen se puede evidenciar mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), pero la realización de esta metodología resulta innecesaria, ya que los estafilococos que crecen en agar Mueller-Hinton con 4% de NaCl y 6 µg/mL de oxacilina suelen presentar el *mecA* y resistir la acción de la nafcilina (8, 91).

Otros métodos experimentales para identificar a *S. aureus*

Larsson y Sjoquist reportaron una técnica que emplea partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-proteína A producidos en pollos; puesto que la proteína A se localiza en la superficie de las células de *S. aureus* y también es secretada al medio de cultivo, dicha prueba la detecta eficazmente en los cultivos líquidos, incluidos los asociados a los hemocultivos (11).

Otros investigadores han diseñado pruebas rápidas de aglutinación en látex para identificar a las cepas MRSA; la técnica más utilizada se realiza en 20 minutos, detecta a PBP_s y, comparada con el cultivo en agar para oxacilina y con la PCR dirigida contra el gen *mecA* (esta última considerada como el estándar de oro), manifiesta una sensibilidad del 93.6% (92, 93, 94).

Guzmán y cols desarrollaron un ensayo inmuno-enzimático para identificar a *S. aureus*, en el que se determina simultáneamente a la proteína A y a la endo β -N-acetilglucosaminidasa (SaG), enzima producida por todos los aislamientos de la especie. El ensayo contempla el uso de un anticuerpo monoclonal anti-SaG y resulta más confiable que la aglutinación en látex y la hemaglutinación pasiva (11).

Pruebas serológicas y de tipificación

En las infecciones profundas prolongadas tales como la endocarditis estafilocócica, es posible detectar anticuerpos anti-ácido teicoico en el suero del enfermo; no obstante, a este tipo de pruebas serológicas se le concede escaso valor práctico (1).

Los estudios epidemiológicos asociados a las infecciones ocasionadas por *S. aureus* se fundamentan en la fagotipia (tipificación por fagos), aunque esta práctica sólo contempla a los brotes graves, como los que ocurren dentro de los hospitales (3, 8, 36).

En general, la cepa aislada se siembra masivamente en agar Hinton-Mueller y posteriormente se deposita una gota con cada fago en regiones distintas de la placa, antes de procederse a la incubación correspondiente (24 h a 35°C). Es conveniente que los fagos utilizados correspondan a alguno de los grupos I al

IV, a fin de determinar, con base en los halos de inhibición (o lisis), el grupo al que pertenece la cepa bacteriana analizada (13).

En otras palabras, el sistema se basa en los patrones de sensibilidad mostrados por cada aislamiento clínico. Éstos suelen pertenecer a los grupos I al III: los estafilococos del grupo II a menudo se asocian a infecciones cutáneas, tales como el impétigo, el pénfigo de los recién nacidos y el SEPE, en tanto que, las cepas enterotoxigénicas lo hacen al grupo III, con el cual también se relacionan las clonas que provocan brotes en neonatos, ancianos y el personal de los hospitales como se muestra en la tabla 4 (1, 13).

Tabla 4. Clasificación por fagos de *Staphylococcus aureus*.

Grupo lítico	Fagos del grupo
I	29, 52, 52A, 79 y 80
II	3A, 3C, 55 y 71
III	6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84 y 85
Sin designación (IV)	81, 94, 95 y 96

En un hospital de Warsaw, Polonia, se estudió la prevalencia de cepas MurC resistentes a mupirocina, surgidas a partir del uso inapropiado del medicamento, y la tipificación por fagos pudo determinar la diseminación del gen *mupA* entre varias especies de estafilococos (95).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Métodos de tipificación genotípica

En términos generales, la tipificación genotípica es el resultado de un monitoreo del genoma bacteriano en regiones que las diferentes cepas presentan considerables grados de variabilidad (14).

A continuación se mencionan los principales métodos de genotipificación de *S. aureus*, los cuales se basan en la previa amplificación de los segmentos de DNA que diferencian a las clonas de interés clínico. Evidentemente, dicha amplificación se efectúa mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (14).

PCR

Las técnicas de biología molecular representan las herramientas "diagnóstica" y "para tipificación" más confiables, ya que se fundamentan en la detección de segmentos de DNA específicos de cada microorganismo. De hecho, en ciertos laboratorios ya resulta relativamente común el empleo de sondas⁴ comerciales, tanto para confirmar resultados obtenidos mediante metodologías convencionales, como para aplicarlas directamente a las muestras patológicas (14).

⁴ Fragmentos de DNA obtenidos a partir de agentes patógenos plenamente identificados. Las sondas sólo hibridan (por complementariedad de bases) con

Si bien desde la década de los ochenta han venido destacando los análisis moleculares mediante *Southern-blot* del DNA y *Northern-blot* del RNA, es preciso tomar en cuenta que, en ambos casos, el éxito depende -entre otros factores- de que la muestra en estudio contenga una cantidad relativamente considerable de la secuencia "blanco", equivalente a la presencia de varios miles de células microbianas (14).

Es precisamente en este aspecto, que el reciente desarrollo de la "reacción en cadena de la polimerasa (PCR)" ha venido a enriquecer la práctica "diagnóstica" y "para tipificación" en los laboratorios de todo el mundo: una vez recolectada y preparada la muestra, ocurre en su seno la rápida multiplicación (amplificación) del DNA perteneciente al agente causal, y los millones de copias obtenidas incrementan notablemente la sensibilidad de cualquier técnica que se elija -a continuación- para lograr la detección correspondiente (14).

En resumen, la PCR es una reacción bioquímica, catalizada por una enzima, en la cual pequeñas cantidades de cualquier segmento "blanco" del DNA se multiplican logarítmicamente (14).

Cabe señalar que la PCR no constituye por sí misma un método diagnóstico o de tipificación; de hecho, el proceso global asociado a la detección o

cadenas simples de DNA homólogo, lo cual determina la posibilidad de detectar al agente causal en la muestra analizada.

tipificación del agente causal, con base en el reconocimiento de su DNA, consta de tres pasos (14):

- (A) Procesamiento de la muestra
- (B) Amplificación del DNA por PCR
- (C) Identificación del DNA amplificado

Evidentemente, la exactitud y precisión de los resultados se basan en dos factores generales: la consistencia de la secuencia nucleotídica en los segmentos "blanco" de DNA y la posibilidad de establecer en forma rápida, confiable y con mayor sensibilidad, la procedencia de los ácidos nucleicos (ya que estos presentan segmentos específicos para cada género, especie, tipo y cepa microbianos) (14).

La PCR es relativamente fácil de llevar al cabo, ya que sólo requiere de un tubo de reacción, de algunos reactivos y de una fuente estable de calor. Adicionalmente, el DNA que se desea copiar puede encontrarse puro o constituir una pequeña porción de una mezcla compleja de materiales biológicos (14).

Una vez efectuada la amplificación, la procedencia del DNA "blanco" se puede establecer mediante diferentes métodos, que comprenden a la electroforesis en gel de agarosa, la RFLP (fragmentos polimórficos de restricción con longitudes variables) y al *Southern-blot* (14).

La amplificación de DNA por PCR corresponde a una reacción enzimática ejecutada por alguna DNA polimerasa; esta clase de enzimas cataliza la formación de un enlace fosfodiéster entre el 3'-OH en el extremo creciente de la cadena de DNA a elongar (el iniciador) y el grupo 5'-PO₄ del desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP) entrante (90, 96).

La elección de cada nucleótido a incorporar está determinada por el DNA molde, al que el iniciador se ha unido previamente por complementariedad de bases (9).

La amplificación del DNA se logra mediante ciclos repetidos de PCR, cada uno de los cuales presenta 3 etapas⁵:

- 1) Desnaturalización del DNA molde -entre los 94° y 96°C-.
- 2) Alineamiento de los iniciadores al molde -entre los 42° y 60°C-.
- 3) Extensión (elongación) de los iniciadores por la DNA polimerasa -entre los 60° y 72°C-.

La reacción de amplificación contempla la participación de dos iniciadores (*primers* o cebadores), que se hibridan (se unen por complementariedad de

⁵ Cada etapa dura apenas entre uno y algunos minutos, por lo cual casi resulta indispensable que el laboratorio cuente con un termociclador; éste permite programar las temperaturas y la duración de los diversos períodos, para todo el proceso.

bases) a cadenas opuestas del segmento "blanco"; cada iniciador se orienta de forma tal que la elongación se lleva a cabo a partir de su extremo 3'-OH, a través de la zona delimitada entre ambos iniciadores y hasta la región homóloga al "otro iniciador". Como cada producto de la amplificación incluye la secuencia complementaria a la del "otro iniciador", prácticamente todos los productos de cada reacción sirven de molde para el siguiente ciclo del PCR (33, 34).

En la primera etapa del ciclo del PCR, se provoca la desnaturalización del DNA molde, entre los 94° y 96°C. En la segunda etapa, la mezcla de reacción se somete a la temperatura óptima de alineamiento entre el iniciador y su molde (42° a 60°C). Finalmente, en la tercera etapa, la temperatura se modifica a 72°C, que es ligeramente inferior a la óptima de una DNA polimerasa termoestable. De esta manera, los iniciadores se elongarán hasta producir nuevas hebras de DNA, incorporando los dNTP's que correspondan - por complementariedad-, a través de la participación de la enzima (34).

Cabe señalar que la más utilizada de las polimerasas termoestables es la *Taq* DNA polimerasa I (*Taq* pol I), producida por la bacteria termófila Gram-negativa *Thermus aquaticus* y que la hibridación inespecífica de los iniciadores puede conducir a la acumulación de productos inespecíficos o a ausencia de amplificación (34).

Los métodos de tipificación por PCR también se pueden aplicar para detectar cepas con rasgos específicos; por ejemplo, para monitorear la transmisión de MRSA u otras clonas de gran interés que originan importantes brotes intrahospitalarios o entre la comunidad (60) .

Electroforesis

Generalmente, ésta revela los polimorfismos genotípicos de acuerdo con las distintas movibilidades electroforéticas de los genes que codifican para las enzimas solubles relacionadas con el metabolismo primario del microorganismo. El método no es muy utilizado en epidemiología, pero diferencia a las clonas que producen TSST-1 (2).

RFLP

La técnica se basa en la distribución de los sitios de anclaje de las endonucleasas de restricción sobre el genoma bacteriano; los diversos fragmentos de mayor tamaño pueden ser diferenciados mediante PFGE (por *pulsed-field gel electrophoresis*) y reflejan las diferencias entre las cepas (14).

Uno de los numerosos ejemplos de la aplicación de esta metodología alude a la detección de 5 marcadores diagnósticos en muestras nasales, de faringe y el esputo de 24 pacientes; dicho análisis pudo determinar que la colonización del tracto respiratorio superior por MRSA representaría el primero de los

procesos patológicos que desencadena infecciones broncopulmonares por dicho agente causal (87, 97).

Alternativamente, los fragmentos del DNA se pueden revelar a través de la técnica de *Southern blot*; por ejemplo, el gen *mecA*, el cual consta de 50 Kb y codifica para la resistencia a meticilina, puede ser evidenciado de esta manera (8).

Sin embargo, el empleo de la PFGE aparenta ser de mayor utilidad en Epidemiología, ya que permite establecer las clonas de *S. aureus* asociadas a cierta infección y localización geográficas; en tal sentido, en algunos estudios de estricta vigilancia molecular realizados en la República Checa se diseñaron clonas de MRSA ibérico y brasileño, las cuales, empleadas como patrones, fundamentaron la tipificación de cepas aisladas dentro de diversos hospitales (98, 99, 100).

Así mismo, la PFGE se ha utilizado para investigar la diseminación de infecciones nosocomiales y para efectuar la tipificación epidemiológica en Tokio, Japón, en donde ciertas cepas de *S. aureus* ocasionaban intoxicaciones alimentarias asociadas a la SEA, SEB y SEA plus (101).

iii. Tratamiento

Un aspecto fundamental en la eficacia terapéutica de los antimicrobianos reside en el estado funcional de los mecanismos de defensa del hospedero, ya que la eficacia de las respuestas celular y humoral pueden resultar determinantes (88).

La penicilina G es el fármaco de elección para tratar las infecciones debidas a estafilococos sensibles a penicilina; desafortunadamente, la mayor parte de las cepas producen penicilinasa y, por lo tanto, neutralizan la acción de las penicilinas G , V y A, y la de la ampilina. Por tal motivo, suelen prescribirse algunas penicilinas o cefalosporinas semisintéticas resistentes a la penicilinasa (86, 102).

Antes del descubrimiento de los antibióticos, el único tratamiento eficaz para tratar las infecciones estafilocócicas consistía en el drenaje quirúrgico de las lesiones mucopurulentas. Actualmente, dicha estrategia terapéutica continúa resultando trascendental, ya que los antimicrobianos no se difunden fácilmente hacia las zonas de supuración, ni actúan con efectividad en ellas. En el caso de los fármacos tales como la penicilina, los cuales sólo son eficaces contra bacterias en crecimiento, el fracaso terapéutico probablemente dependa de que muchos de los microorganismos presentes en los exudados

purulentos no se encuentran reproduciéndose, aunque también influye el hecho de que algunos agentes antiestafilocócicos no funcionan en presencia de los productos de necrosis tisular (27).

S. aureus adquiere fácilmente la resistencia a los antibióticos, lo cual ha provocado la obsolescencia de muchos de ellos para el tratamiento de las patologías implicadas. Numerosas cepas que producen penicilinas se pueden erradicar de manera exitosa con meticilina, una penicilina semisintética resistente a dicha enzima; sin embargo, hoy en día también existen clonas capaces de inactivar a dicho antimicrobiano, las cuales han recibido la denominación de MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina) (86).

En consecuencia, cualquier estafilococo debe someterse a estudios de susceptibilidad, aunque el tratamiento inicie antes de que se obtengan los resultados. Es preciso que cualquier régimen terapéutico sea intensivo, para que todas las células microbianas mueran antes de que ocurra alguna mutación que origine la aparición de la clona resistente correspondiente (13).

Cuando se trata de infecciones en piel y tejidos, también resulta fundamental el drenaje adecuado del absceso u otras lesiones, además de administrar al enfermo alguna penicilina oral resistente a penicilinas o una cefalosporina (dicloxacilina o cefalexina, respectivamente) a razón de 500 mg/6h durante 7 a 10 días. En pacientes alérgicos a penicilina se puede recurrir a la eritromicina

(500 mg/6h); evidentemente, para infecciones más complicadas, con extensiones hasta tejidos profundos y fiebre, está justificado el tratamiento parenteral, con penicilinas resistentes a penicilinasas, tales como nafcilina u oxacilina, en dosis de 1.5 g/6h intravenosas (IV) (86).

En pacientes alérgicos sin reacciones de gravedad se puede emplear cefazolina, 500 mg/8h IV o intramusculares (IM) aunque, si la hipersensibilidad es muy marcada hacia los β -lactámicos, o bien, cuando la cepa es resistente a la meticilina, el fármaco de elección es la vancomicina, en dosis de 1g/12h IV (90).

Por lo que se refiere a la osteomielitis, se requieren tratamientos prolongados (de 4 a 6 semanas o más) con nafcilina u oxacilina (9 a 12 g/4h), o bien, con cefazolina (1 g/8h); en caso de alergia, la vancomicina (1 g /12h) es el agente recomendado. Por su parte, los regímenes orales de elección son la dicloxacilina o cefalexina (1 g/6h), el trimetoprim-sulfametoxazol 160mg/800mg o la ciprofloxacina (750 mg/12h). Algunas autoridades de salud recomiendan agregar rifampicina para el tratamiento de la osteomielitis estafilocócica, en dosis de 300 mg/12h (90).

Si bien la osteomielitis hematógena aguda responde bien a los antimicrobianos, la de tipo crónica y la recidivante requieren ineludiblemente del drenaje quirúrgico y de la extirpación del hueso, acompañados por la

administración prolongada de fármacos apropiados, ya que resulta muy difícil erradicar al estafilococo infectante. El oxígeno hiperbárico puede ayudar a la cicatrización correspondiente (86).

Por su parte, en la bacteremia, endocarditis, neumonía y otras infecciones graves causadas por el *S. aureus*, es necesaria la terapéutica intravenosa prolongada con penicilinas resistentes a las β -lactamasas. La vancomicina con frecuencia se reserva para erradicar a los estafilococos resistentes a nafcilina y, si la infección es causada por cepas no productoras de penicilinas, el fármaco preferido es la penicilina G (8).

En cuanto a la terapia de las bacteremias estafilocócicas no complicadas, se recomienda un mínimo de 10 a 14 días de nafcilina u oxacilina (1.5 g/4-6h IV), cefazolina (500 a 1,000 mg/8h) o vancomicina (1 g/12h), aunque esta última debe reservarse para los pacientes con alergia grave a penicilina o con infecciones provocadas por MRSA, debido a que es menos activa que los antibióticos β -lactámicos. Las terapéuticas parenterales u orales más prolongadas casi son exclusivas para pacientes diabéticos, inmunocomprometidos en riesgo de complicaciones tardías y sospechosos de experimentar endocarditis (90).

Por su parte, los aspectos más importantes del tratamiento del SST incluyen rehidratación rápida, fármacos antiestafilocócicos, terapéutica de la

insuficiencia renal y/o cardíaca, además de la suspensión del uso de tampones o el drenaje del absceso. Los fármacos de elección incluyen a la penicilina, vancomicina, y clindamicina; si el microorganismo es resistente a meticilina, es apropiada la vancomicina intravenosa, aunque la penicilina G o benzilpenicilina representa el antibiótico más frecuentemente prescrito por los médicos (32).

La resistencia múltiple a los antibióticos no sólo complica la terapéutica sino que, además, es una característica transferible entre las cepas; por ello, es indispensable la realización de antibiogramas, o bien, el establecimiento de regímenes combinados, agregando algún aminoglucósido (gentamicina o tobramicina) a la cefalotina o rifampicina (la vancomicina no se combina) (3, 103, 104).

La mayor estabilidad a la acción de las β -lactamasas se ha detectado en la meticilina y nafcilina, seguidas por la oxacilina, cloxacilina y dicloxacilina; las cefalosporinas muestran estabilidades variables, dependiendo de su estructura; mientras la cefalotina es muy resistente, con la cefalozina ocurre todo lo contrario (86).

En *S. aureus* se han descubierto tres tipos diferentes de β -lactamasas, diferenciables mediante caracterizaciones inmunológicas, de sustrato y de inhibición. Todas ellas son usualmente inducibles y ocasionalmente

constitutivas, están codificadas por plásmidos y acarrean otros genes importantes tales como los de resistencia a metales pesados, a eritromicina y a otros antibióticos (90).

La resistencia intrínseca, también llamada resistencia a meticilina, reside en las β -lactamasas y las cefalosporinasas; se detecta al obtenerse MICs mayores de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ o de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para oxacilina y meticilina, respectivamente (2, 105).

Por otra parte, la rápida y desafortunada diseminación de la resistencia a vancomicina en cepas clínicas de *S. aureus* podría tener un gran impacto negativo, puesto que dicho antimicrobiano representa la última alternativa para tratar a las clonas multirresistentes de esta especie y de otras bacterias Grampositivas; ciertamente, desde 1980 se ha intentado avanzar en el desarrollo de nuevas fórmulas antibacterianas, pero los logros han resultado prácticamente nulos o muy pobres (90).

Por ejemplo, recientemente se ha experimentado con microcápsulas estafilocócicas para desarrollar vacunas eficaces, lo que podría representar un complemento para instituir el tratamiento de enfermedades causadas por cepas de *S. aureus* resistentes a multifármacos (14).

Cabe mencionar que la tPMP-1 plaquetaria causa prolongados efectos inhibitorios de crecimiento en los estafilococos, mismos que resultan similares a los provocados por la oxacilina y la vancomicina (106).

De hecho, la simultánea exposición de *S. aureus* a la tPMP-1 y oxacilina se traduce en efectos bactericidas sinérgicos. Así mismo, la preexposición de *S. aureus* y *Candida sp* a la tPMP-1 reduce significativamente la capacidad de esos microorganismos para unirse a las plaquetas *in vitro*, fenómeno que se magnifica con la presencia conjunta de otros agentes antimicrobianos (106).

La teicoplanina, cuyo mecanismo de acción es casi idéntico al de la vancomicina, ha sido utilizado extensamente en Europa. Con base en ello, se ha diseñado el LY333328, un glucopéptido semisintético cuyos estudios se encuentran en la fase II en USA; hasta ahora, el antimicrobiano promete una gran eficacia para destruir a las cepas MRSA, originando procesos similares a los desencadenados por la vancomicina y teicoplanina: previa unión al dipéptido de la pared celular D Ala-D Ala, o bien, al D Ala-D Lac, cuando la cepa cuenta con la capacidad de transformar al primero en el segundo (vía la elaboración de enzimas VanA-X), para dejar sin "blanco" de acción a los glucopéptidos naturales (63, 107).

La estreptogramina combinada quinupristina/dalfopristina representa otra esperanza; al parecer presenta una excelente actividad contra MRSA y estafilococos coagulasa negativa (103).

Por otra parte, la FDA aprueba el uso de fluoroquinolonas tales como la trovafloxacin y levofloxacin en los EU y otros paises que tambi3n enfrentan graves problemas de infecciones mixtas y multiresistencia. Sin embargo, ambas s3lo resultan ser bactericidas para *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA), por lo que suelen sustituirse por clinafloxacin, activa contra algunos cultivos de MRSA (63).

En resumen, los pocos avances terap3uticos contra *S. aureus* se basan en: 1) la modificaci3n de antibi3ticos ya conocidos, para dar lugar al LY333328 y la clinafloxacin; 2) la re-estructuraci3n y estudio de antimicrobianos no frecuentes (ziracina y quinupristina/dalfopristina); 3) la producci3n de nuevas clases de antimicrobianos (HMR3647, linezolid, eperezolid) (63).

La tabla 5 muestra informaci3n acerca de las prioridades en la selecci3n de f3rmacos espec3ficos para tratar emp3ricamente las enfermedades ocasionadas por *S.aureus* sensibles o resistentes a meticilina.

Tabla 5. Antibióticos más utilizados contra *S. aureus*.

<i>S. aureus</i> *	Primera elección	Segunda elección	Tercera elección ¹
Sensible a meticilina	Nafcilina u Oxacilina	Cefalosporina G1 ² o Vancomicina	Clindamicina ³ Eritromicina ³ TMP-SZL + Rifampicina ⁴ Ciprofloxacina + Rifampicina ⁴
Resistente a meticilina	Vancomicina ⁵	Ciprofloxacina + Rifampicina ⁴	TMP-SZL + Rifampicina ⁴

CLAVES:

- * = Es conveniente realizar antibiogramas a todas las cepas.
- ¹ = Los fármacos de segunda y tercera elección: a) están indicados en sujetos hipersensibles a compuestos de mayor o igual eficacia; b) son potencialmente más tóxicos que los fármacos igualmente activos; c) son menos propensos a producir una reacción terapéutica deseada.
- ² = G1 se designa a las cefalosporinas de primera generación.
- ³ = No está indicado en endocarditis, meningitis u otras infecciones del SNC.
- ⁴ = La rifampicina es muy activa contra casi todas las cepas de *S. aureus*, incluidas algunas de las que son resistentes a meticilina. La resistencia surge con rapidez (mutación de una etapa), por tal razón hay que utilizarlo junto con otro fármaco activo.
- ⁵ = La vancomicina es el único antimicrobiano con eficacia probada para tratar infecciones graves por MRSA.

CONCLUSIONES

1. Los padecimientos ocasionados por este microorganismo se clasifican en 3 categorías: lesiones cutáneas, lesiones profundas y enfermedades causadas por toxinas.
2. Entre las lesiones cutáneas aún destacan la furunculosis y el impétigo, si bien las más importantes son las contaminaciones de heridas intrahospitalarias.
3. Las lesiones estafilocócicas profundas son numerosas, si bien sobresalen la bacteremia, endocarditis, neumonía, osteomielitis y, desde luego, la etapa posterior de las infecciones quirúrgicas y las que afectan a los tejidos quemados.
4. Las principales enfermedades ocasionadas por exotoxinas estafilocócicas son las numerosas intoxicaciones alimentarias; ello deriva de su frecuencia porque, en cuanto a gravedad, son superadas por el SST, asociado al uso de tampones superabsorbentes o a las cirugías nasales.

5. Los métodos de laboratorio utilizados para la identificación de *S. aureus* abarcan a los de índole microbiológica, serológica y molecular.
6. Las técnicas microbiológicas de diagnóstico continúan basándose en el empleo de medios selectivos y en la realización de la prueba de la coagulasa.
7. Entre los métodos moleculares empleados para detectar la presencia de *S. aureus*, destaca el de la reacción en cadena de la polimerasa; sin embargo, ésta podría considerarse hasta como inconveniente, dado que su elevado costo, el equipo requerido y la especialización que necesitan los analistas, contrastan notablemente con el rápido crecimiento de los estafilococos en los medios comunes y con los escasos o nulos problemas asociados a la prueba de la coagulasa.
8. El tratamiento más eficaz contra las enfermedades ocasionadas por *S. aureus* se desprende de la previa realización del antibiograma correspondiente, debido a que actualmente este microorganismo es uno de los que destacan por su multirresistencia; desafortunadamente, en el ambiente intrahospitalario ya también existen cepas capaces de neutralizar la acción de la vancomicina, lo que obliga a trabajar más intensamente en el desarrollo de vacunas razonadas.

9. Los pocos avances terapéuticos recientes contra las estafilococcias se han basado en las siguientes estrategias: 1) la modificación química de antibióticos ya conocidos, que ha dado origen a LY333328 y a la clinafloxacin; 2) la reestructuración y estudio de antimicrobianos de uso infrecuente, tales como la zircina y quinupristina/dalfopristina; y 3) la producción de nuevas clases de antibacterianos (HMR3647, linezolid y eperezolida).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zinsser, Wolfgang K.J., Willet P.H.
MICROBIOLOGÍA.
20ª edición. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1996: Cap.23.
2. Mandell, Douglas and Bennett's.
PRINCIPLES AND PRACTICE OF INFECTIOUS DISEASES.
4ª edición Vol.2. USA: Churchill Livingstone, 1995: Cap.173.
3. Youmans P.G., Paterson Y.P., Sommers M.H.
INFECTOLOGÍA CLÍNICA.
2ª edición. México: Interamericana, 1982:Cap.46.
4. Raisig A., and Sandmann Gerhard.: 4,4' Diaphytoene desaturase: catalytic properties of an enzyme from the C30 carotenoid pathway of *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol, 1999; 181(19): 6184-6187.
5. Sherris C.J.
MICROBIOLOGÍA MÉDICA. Introducción a las enfermedades infecciosas.
España: Ediciones Dorma, 1996: Caps. 2,3,8,15.
6. Delgado I.A. y Prieto M.S.
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.
España: Interamericana Mc.Graw Hill, 1994: 175-199.
7. Howe A.R., Wootton M., Bennett M.P., MacGowan P.A. and Walsh R.T.: Interactions between methicillin and vancomycin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains displaying different phenotypes of vancomycin susceptibility. J Clin Microbiol, 1999; 37(9): 3068-3071.
8. Jawetz E., Melnick J. y Adelberg E.
MICROBIOLOGÍA MÉDICA.
16ª edición. México: El Manual Moderno, 1999: Cap.14.
9. Jay J.M.
MODERN FOOD MICROBIOLOGY.
5ª edición. New York: Champan & Hall, 1996: Cap.20.
10. Koneman W.E. y Allen D.S.
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO. Texto Atlas.
Buenos Aires: Médica panamericana, 1989: Cap.7.

11. Koneman W.E. y Allen D.S.
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO. Texto Atlas.
5ª edición. Buenos Aires: Médica panamericana. 1999: 529-561.
12. Stainer Y.R., Ingraham L.J., Wheelis L.M. and Painter R.P.
MICROBIOLOGÍA.
2ª edición. Barcelona. Reverté, 1996: Cap.23.
13. Wesley A.V.
MICROBIOLOGÍA BÁSICA.
7ª edición. México: Harla, 1996: 535-537,642-648.
14. Fischetti A.V., Novick P.R., Fenelti J.J., Portnoy A.D. and Rood I.J.
GRAM POSITIVE PATHOGENS.
Part III USA : American Society for Microbiology Press, 2000.
15. Gorbach L.S., Bartlett G.J. and Blacklow R.N.
INFECTIOUS DISEASES.
Part VI, USA: W.B.Saunders Company, 1992: Cap.85.
16. Albus A., Arbet R.D. and Lee J.C.: Virulence of *Staphylococcus aureus* mutants altered in type 5 capsule production. *Infect Immun*, 1991; 59: 1008-1014.
17. Lee C.Y.: Association of staphylococcal type – 1 capsule encoding genes with a discrete genetic element. *Gene*, 1995; 167: 115-119.
18. Poutrel B., Boutonnier A., Sutra L. and Fournier J.M.: Prevalence of capsular polysaccharide types 5 and 8 among *Staphylococcus aureus* isolates from cow, goat and ewe milk. *J Clin Microbiol*, 1988; 26: 38-40.
19. Clements O.M., Watson P.S. and Foster J.S.: Characterization of the major superoxide dismutase of *Staphylococcus aureus* and its role in starvation survival, stress resistance, and pathogenicity. *J Bacteriol*, 1999; 181(13): 3898-3903.
20. Hebert S., Worlitzsch D., Dassy B., Boutonnier A., Fournier J.M., Bellon G., Dalhoff A. and Doring G.: Regulation of *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide type 5: CO₂ inhibition in vitro and in vivo. *J Infect Dis*, 1997; 176: 431-438.
21. Fujimoto F.D. and Bayles W.K.: Opposing roles of the *Staphylococcus aureus* virulence regulators, Agr and Sar, in triton X-100 and penicillin-induced autolysis. *J Bacteriol*, 1998; 180(14): 3724-3726.

22. Watson P.S., Clements O.M. and Foster J.S.: Characterization of the starvation- survival response of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 1998; 180(7): 1750-1758.
23. Sutra L., Mendolia C., Rainard P., and Poutrel B.: Phagocytosis of mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* and expression of type 5 capsular polysaccharide are influenced by growth in the presence of milk. J Clin Microbiol, 1990; 28: 2253-2258.
24. Peterson P.K., Wilkinson B.J., Kim Y., Schmeling D., and Quie P.G.: Influence of encapsulation on staphylococcal opsonization and phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes. Infect Immun, 1998; 19: 943-949.
25. Fournier B. and Hooper C.D.: A new two-component regulatory system involved in adhesion, autolysis, and extracellular proteolytic activity of *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol, 2000; 182(14): 3955-3964.
26. Bendlin A., Linares H. y Benaim F.
TRATADO DE QUEMADURAS.
México: Interamericana Mc Graw – Hill, 1993: Cap.26.
27. Myrvik N.Q. and Weisser S.R.
BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICAS.
2ª edición. México: Interamericana Mc.Graw Hill, 1991: Cap.9.
28. Callegan C.M., Booth C.M., Jett D.B. and Gilmore S.M.: Pathogenesis of gram – positive bacterial endophthalmitis. Infect Immun, 1999; 67(7):3348-3356.
29. Kumate J., Muñoz O., Gutierrez G. y Santos I.S.
MANUAL DE INFECTOLOGÍA CLÍNICA.
15ª edición. México: Editores Méndez, 1998: Caps. 2,3,4,5,14.
30. Sascha A.K., Durr M., Van Strijp A.G.J., Neumeister B. and Peschel A.: MprF – mediated lysinylation of Phospholipids in *Staphylococcus aureus* leads to protection against oxygen – independent neutrophil killing. Infect Immun, 2003; 71(1): 546-549.
31. Doyle P.M., Beuchat R.L. and Montville J.T.
FOOD MICROBIOLOGY. FUNDAMENTALS AND FRONTIERS.
Washington D.C. ASM Press, 1997: Cap.19.
32. Gladwin M. and Trattler B.
CLINICAL MICROBIOLOGY MADE RIDICULOUSLY SIMPLE. USA:
Mc.Graw Hill, 2000: Cap.5.

33. Pomarola A. y Rodríguez T.A.
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA.
2ª edición. Barcelona: Ediciones Científicas y Técnicas S.A.Masson,
1994: Cap.27.
34. Saunders E.Ch.
DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE URGENCIAS.
3ª edición. México: El manual moderno, 1994: Cap.34.
35. Tintinalli E.J.
MEDICINA DE URGENCIAS.
4ª edición. Vol.1. México: Interamericana Mc Graw-Hill, 1999: Cap. 27.
36. Shulman S.T., Phair P. J. and Sommers H.M.
THE BIOLOGIC AND CLINICAL BASIS OF INFECTIOUS DISEASES.
4ª edición. USA: W.B.Saunders Company, 1992: Cap.36.
37. Dragneva Y., Anuradha C.D., Valeva A., Hoffmann A., Bhakdi S. and
Husmann M.: Subcytotoxic attack by staphylococcal alpha-toxin
activates NF- κ B and induces interleukin-8 production. *Infect Immun*,
2001; 69(4): 2630-2635.
38. Ji Y., Marra A., Rosenberg M. and Woodnutt G.: Regulated antisense
RNA eliminates alpha - toxin virulence in *Staphylococcus aureus*
infection. *J Bacteriol*, 1999; 181(21): 6585-6590.
39. O'Callaghan R.J., Callegan M.C., Moreau J.M., Green L.C., Foster T.J.,
Hartford O.M., Engel L.S. and Hill J.M.: Specific roles of alpha-toxin and
toxins during *Staphylococcus aureus* corneal infection. *Infect Immun*,
1997; 65: 1571-1578.
40. Walev I., Weller U., Strauch S., Foster T.J., and Bhakdi S.: Selective
killing of human monocytes and cytokine release provoked by
sphingomyelinase (beta toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*,
1996; 64: 2974-2979.
41. Jonas D., Walev I., Berger T., Liebetrau M., Palmer M. and Bhakdi S.:
Novel path to apoptosis: small transmembrane pores created by
staphylococcal alpha toxin in T lymphocytes evoke internucleosomal
DNA degradation. *Infect Immun*, 1994; 62: 1304-1312.
42. Somerville A.G., Beres B.S., Fitzgerald R.J., De Leo R.F., Cole R.L.,
Hoff S.J. and Musser M.J.: In vitro serial passage of *Staphylococcus*
aureus: changes in physiology, virulence factor production, and *agr*
nucleotide sequence. *J Bacteriol*, 2002; 184(5): 1430-1437.

43. Prevost G., Coupie P., Prevost P., Gayet S., Petiau P., Cribier B., Montiel H., and Piemont Y.: Panton-Valentine leukocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have difference biological activities. *Infect Immun*, 1995; 63: 4121-4129.
44. Colin D.A., Meunier O., Staali L., Monteil H. And Prevost G.: Action mode of the two components pore-forming leucotoxins from *Staphylococcus aureus*. *Med Microbiol Immunol*, 1996; 185:107-114.
45. Colin D.A., Mazurier I., Sire S. and Finck-Barbancon V.: Interaction of the two components of leukocidin from *Staphylococcus aureus* with human polymorphonuclear leukocyte membranes: sequential binding and subsequent activation. *Infect Immun*, 1994; 62: 3184-3188.
46. Stiles G.B., Campbell G.Y., Castle M.R. and Grove A.S.: Correlation of temperature and toxicity in murine studies of staphylococcal enterotoxins and toxic shock syndrome toxin -1. *Infect Immun*, 1999; 67(3): 1521-1525.
47. Orwin M.P., Leung M.D.Y., Donahue L.H., Novick P.R. and Schlievert M.P.: Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K. *Infect Immun*, 2001; 69(1): 360-366.
48. Stohl W., Elliott J.E., Lynch D.H. and Kiener P.A.: CD95 (Fas)-based, superantigen-dependent, CD4+ T cell-mediated down regulation of human in vitro immunoglobulin responses. *J Immunol*, 1998; 160: 5231-5238.
49. Wahib M.: Mapping of staphylococcal enterotoxin A functional binding sites and presentation by monoclonal antibodies and fusion proteins. *Infect Immun*, 1999; 67(4): 1894-1900.
50. Al Daccak R., Mehindate K., Damdoumi F., Etongue- Mayer P., Nilsson H., Antonsson P., Sundstrom M., Dohlsten M., Sekaly R.P. and Mourad W.: Staphylococcal enterotoxin D is a promiscuous superantigen offering multiple modes of interactions with the MHC class II receptors. *J Immunol*, 1998; 160: 225-232.
51. Moulding A.D., Walter C., Hart C.A. and Edwards W.S.: Effects of Staphylococcal enterotoxins on human neutrophil functions and apoptosis. *Infect Immun*, 1999; 67(5): 2312-2318.
52. Vath, G.M., Earhart C.A., Rago J.V., Kim M.H., Bohach G.A., Schlievert P.M., and Ohlendford D.H.: The structure of the superantigen exfoliative toxin A suggests a novel regulation as a serine protease. *Biochemistry*, 1997; 36: 1559-1566.

53. Alcamo I.E.
FUNDAMENTALS OF MICROBIOLOGY.
5ª edición. USA.: Addison Wesley, 1997: Cap.23.
54. Giraud A.T., Cheung A.L., and Nagel R.: The *sae* locus of *Staphylococcus aureus* controls exoprotein synthesis at the transcriptional level. J Clin Microbiol, 1997; 168: 53-58.
55. Stutzmann M.P., Entenza J.M., Vaudaux P., Francioli P., Glauser M.P. and Moreillon P.: Study of *Staphylococcus aureus* pathogenic genes by transfer and expression in the less virulent organism *Streptococcus gordonii*. Infect Immun, 2001; 69(2): 657-664.
56. Sawai T., Tomono K., Yanagihara K., Yamamoto Y., Kaku M., Hirakata Y., Koga H., Tashiro T., and Kohno S.: Role of coagulase in a murine model of hematogenous pulmonary infection induced by intravenous injection of *Staphylococcus aureus* enmeshed in agar beads. Infect Immun, 1997; 65: 466-471.
57. Collen D.: Staphylokinase: a potent, uniquely fibrin- selective thrombolytic agent. Nat Med, 1998; 4: 279-284.
58. Wright V.M., Gatson W.J., Wreyford N. and Hart E.M.: The superoxide dismutase gene *sodM* is unique to *Staphylococcus aureus*: absence of *sodM* in coagulase – negative staphylococci. J Bacteriol, 2002; 184(9): 2465-2472.
59. Soulat D., Vaganay E., Duclos B., Genestier A.L., Etienne J. and Cozzone J.A.: *Staphylococcus aureus* contains two low – molecular-mass phosphotyrosine protein phosphatases. J Bacteriol, 2002; 184(18): 5194-5199.
60. Belkum V.A., Leeuwen V.W., Tassios T.P., Legakis J.N., Zee V.A., Bergmans A., Blanc S.D., Tenover C.F., Cookson C.B., O'Neil G., Struelens J.M. and the European study group on epidemiological markers of the *escm*id.: Multicenter evaluation of epidemiological typing of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* strains by repetitive element PCR analysis. J Clin Microbiol, 2000; 38(10): 3527-3533.
61. McGavin M.J., Zahradka C., Rice K., and Scott J.E.: Modification of the *Staphylococcus aureus* fibronectin binding phenotype by V8 protease. Infect Immun, 65: 2621-2628.
62. Long J.P., Hart J., Albers W., and Kapral F.A.: The production of fatty acid modifying enzyme (FAME) and lipase by various staphylococcal species. J Med Microbiol, 1992; 37: 232-234.

63. Brooks K.A. and Zervos J.M.: New antimicrobial agents for Gram-positive infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 1998; 11:667-671.
64. Palma M., Haggar A. and Flock J.I.: Adherence of *Staphylococcus aureus* is enhanced by an endogenous secreted protein with broad binding activity. *J Bacteriol*, 1999; 181(9): 2840-2845.
65. Ton- That H., Tabischinski H., Berger- Bachi B., and Schneewind O.: Anchor structure of staphylococcal surface proteins III role of the femA, fem B and femX factors in anchoring surface proteins to the bacterial cell wall. *J Biol Chem*, 1998; 273: 29143-29149.
66. Ni Eidhin D., Perkins S., Francois P., Vaudaux P., Hook M., and Foster T.J.: Cumping factor B (ClfB) a new surface located fibrinogen binding adhesin of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*, 1998; 32: 245-257.
67. Manna C.A. and Cheung L.A.: *SarU*, *sarA* homolog, is repressed by *sarT* and regulates virulence genes in *Staphylococcus aureus*, *Infect Immun*, 2003; 71(1): 343-353.
68. Shinji H., Seki K., Tajima A., Uchida A. and Masuda S.: Fibronectin bound to the surface of *Staphylococcus aureus* induces association of very late antigen 5 and intracellular signaling factors with macrophage cytoskeleton. *Infect Immun*, 2003; 71(1): 140-146.
69. Molinari G., Talay S.R., Valentin Weigand P., Rohde M., and Chhatwal G.S.: The fibronectin binding protein of *Streptococcus pyogenes* Sfb7 is involved in the internalization of group A streptococci by epithelial cells. *Infect Immun*, 1997; 65:1357-1363.
70. Blevins S.J., Elasar O.M., Allmendinger D.S., Beenken E.K., Skinner A.R., Roby J.T. and Smeltzer S.M.: Role of *sarA* in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infection. *Infect Immun*, 2003; 71(1): 516-523.
71. Nilsson I.M., Patti J.M., Bremell T., Hook M., and Tarkowski A.: Vaccination with a recombinant fragment of the collagen adhesin provides protection against *Staphylococcus aureus* mediated septic death. *J Clin Invest*, 1998; 101:2640-2649.
72. Vaudaux, P.E., Francois P., Proctor A., McDevitt D., Foster T.J., Albrecht, R.M., Lew D.P., Wabers H., and Cooper S.L.: Use of adhesion defective mutants of *Staphylococcus aureus* to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arteriovenous shunts. *Infect Immun*, 1995; 63: 585-590.

73. McDevitt D., Nanavaty T., House-Pompeo K., Bell E., Turner N., McIntire L., Foster T.J., and Hook M.: Characterization of the interaction between the *Staphylococcus aureus* clumping factor (ClfA) and fibrinogen. *Eur J Biochem*, 1997; 247: 416-424.
74. O'Connell D., Nanavaty T., McDevitt D., Gurusiddappa S., Hook M., and Foster T.J.: The fibronectin binding MSCRAMM (clumping factor) of *Staphylococcus aureus* has an integrin like Ca²⁺ dependent inhibitory site. *J Biol Chem*, 1998; 273: 6821-6829.
75. Nilsson I.M., Feykberg L., Flock J.I., Pei L., Lindberg M., and Guss B.: A fibronin binding protein of *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun*, 1998; 66:2666-2673.
76. Cunnion K.M. and Frank M.M.: Complement activation influences *Staphylococcus aureus* adherence to endothelial cells. *Infect Immun*, 2003; 71(3): 1321-1327.
77. Heinrichs H.J., Gatlin E.L., Kunsch Ch., Choi H.G. and Hanson S.M.: Identification and characterization of SirA, an iron-regulated protein from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 1999; 181(5): 1436-1443.
78. Sebelsky M.T., Hohnstein D., Hunter D.M. and Heinrichs E.D.: Identification and characterization of a membrane permease involved in iron-hydroxamate transport in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2000; 182(16): 4394-4400.
79. Horsburgh J.M., Ingham E. and Foster J.S.: In *Staphylococcus aureus*, Fur is an interactive regulator with PerR, contributes to virulence, and is necessary for oxidative stress resistance through positive regulation of catalase and iron homeostasis. *J Bacteriol*, 2001; 183(1): 468-475.
80. Luong T.T., Ouyang S., Bush K. and Lee Y.Ch.: Type 1 capsule genes of *Staphylococcus aureus* are carried in a staphylococcal cassette chromosome genetic element. *J Bacteriol*, 2002; 184(13): 3623-3629.
81. Cunnion K.M., Zhang H.M. and Frank M.M.: Availability of complement bound to *Staphylococcus aureus* to interact with membrane complement receptors influences efficiency of phagocytosis. *Infect Immun*, 2003; 71(2): 656-662.
82. Lee J.C., Park J.S., Shepherd S.E., Carey V., and Fattom A.: Protective efficacy of antibodies to the *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides in a modified rat model of endocarditis. *Infect Immun*, 1997; 65: 4146-4151.

83. Nilsson I.M., Lee J.C., Bremell T., Ryden C., and Tarkowsky A.: The role of staphylococcal polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis. *Infect Immun*, 1997; 65: 4216-4221.
84. Pucci J.M. and Dougherty J.T.: Direct quantitation of the numbers of individual penicillin – binding proteins per cell in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2002; 184(2): 588-591.
85. Sheagren N.J. and Schaberg R.D. MICROBIAL AGENTS. Gram Positive Cocci. 2ª edición. Part VII. USA: Mc.Graw Hill, 1998: Cap.203.
86. Goodman y Gilman. LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPIA. 4ª edición, Vol.II. México: Mac Graw Hill, 1996: Caps.43,45,46,47.
87. Watanabe H., Masaki H., Asoh N., Watanabe K., Oishi K., Kobayashi S., Sato A. and Nagatake T.: Molecular analysis of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* as a causative agent of bronchopulmonary infection: relation to colonization in the upper respiratory tract. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(10): 3867-3869.
88. Bowman W.C. y Rand M.J. FARMACOLOGÍA. BASES BIOQUÍMICAS Y PATOLÓGICAS. APLICACIONES CLÍNICAS. 2ª edición. México: Interamericana, 1985.
89. Baran J., Weglarczyk K., Mysiak M., Guzik K., Ernst M., Flad H.D. and Pryjma J.: Fas(CD95)-Fas ligand interactions are responsible for monocyte apoptosis occurring as a result of phagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, 2001; 69(3): 1287-1297.
90. Tierney M.L. y Papadakis A.M. DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y TRATAMIENTO. 30ª edición. México: El manual moderno, 1995: 1205-1207.
91. Loessner I., Dietrich K., Dittrich D., Hacker J. and Ziebuhr W.: Transposase – dependent formation of circular IS256 derivatives in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2002; 184(17): 4709-4714.
92. Deplano A., Schuermans A., Eldere V.J., Witte W., Meugnier H., Etienne J., Grundmann H., Jonas D., Noordhoek T.G., Dijkstra J., Griethuysen V.A., Pouw M., Leeuwen V.N., Heck M., Willemse P., Buiting A. and Kluytmans J.: Rapid slide latex agglutination test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(9): 2789-2792.

93. Kohner P., Uhl J., Kolbert C., Persing D. and Cockerill F.: Comparison of susceptibility testing methods with *mecA* gene analysis for determining oxacillin (Methicillin) resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus spp.* J Clin Microbiol, 1999; 37(9): 2952-2961.
94. VanLeeuwen B.W., Pelt V.C., Luijendijk A., Verbrugh A.H. and Goessens H.F.W.: Rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by the MRSA –screen latex agglutination test. J Clin Microbiol, 1999; 37(9): 3029-3030.
95. Leski A.T., Gniadkowski M., Skoczynska A., Stefaniuk E., Trzcinski K. and Hryniewicz W.: Outbreak of Mupirocin resistant staphylococci in a hospital in Warsaw, Poland, due to Plasmid transmission and clonal spread of several strains. J Clin Microbiol, 1999; 37(9): 2781-2788.
96. Salyers A. A. and Whitl P. D. BACTERIAL PATHOGENESIS. A MOLECULAR APPROACH. Washington D.C. ASM Press, 2nd. Edition, 1994: Cap.11.
97. Jevon M., Guo Ch., Ma B., Mordan N., Nair P.S., Harris M., Henderson B., Bentley G. and Meghji S. Mechanisms of internalization of *Staphylococcus aerus* by cultured human osteoblasts. Infect Immun, 1999; 67(5): 2677-2681.
98. Booth C.M., Pence M.L., Mahasreshti P., Callegan C.M. and Gilmore S.M.: Clonal Associations among *Staphylococcus aureus* Isolates from Varios Sites of Infection. Infect Immun, 2001; 69(1): 345-352.
99. Hill S.T.Ch., Stacey K., Moghaddami N., Murray W.A. and Ferrante A.: Role of the extracellular signal – regulated protein kinase cascade in human neutrophil killing of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* and in migration. Infect Immun, 1999; 67(3): 1297-1302.
100. Melter O., Santos S.I., Schindler J., Aires de Sousa M., Mato R., Kovaroka V., Zemlickova H. and De Lencastre H.: Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* clonal types in the Czech Republic. J Clin Microbiol, 1999; 37(9): 2798-2803.
101. Shimizu A., Fujita M., Igarashi H., Takagi M., Nagase N., Sasaki A. and Kawano J.: Characterization of *Staphylococcus aureus* coagulase type VII isolates from staphylococcal food poisoning outbreak (1980-1995) in Tokyo, Japan, by Pulsed – Field Gel Electrophoresis. J Clin Microbiol, 2000; 38(10):3746-3749.

102. Groicher H.K., Firek A.B., Fujimoto F.D. and Bayles W.K.: The *Staphylococcus aureus* *IgrAB* Operon Modulates Murein Hydrolase Activity and Penicillin Tolerance. *J Bacteriol*, 2000; 182 (7): 1794-1801.
103. Martin P.K., Bao Y., Boyer E., Winterberg K.M., McDowell L., Schmid M.B. and Buysse J.M. Novel locus required for expression of high – level macrolide – lincosamide – streptogramin B resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2003; 184(20): 5810-5813.
104. Mi N.K., Pai H.Ch., Hee W.J., So R.J. and Hiramatsu K.: Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. *J Clin Microbiol*, 2000; 38(10): 3879-3881.
105. O'Brien F.G., Pearman J.W., Gracey M., Riley T.V. and Grubb W.B.: Community strain of Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* involved in a hospital outbreak. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(9): 2858-2862.
106. Bayer S.A., Ramos M.D., Menzies B.E., Yeaman M.R., Shen A., and Cheung A.L.: Hyperproduction of alpha toxin by *Staphylococcus aureus* results in paradoxically reduced virulence in experimental endocarditis – host defense role for platelet microbicidal proteins. *Infect Immun*, 1997; 65: 4652-4660.
107. Hiramatsu K. and Hanaki H.: Glycopeptide resistance in staphylococci. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 1998; 11: 653-658.